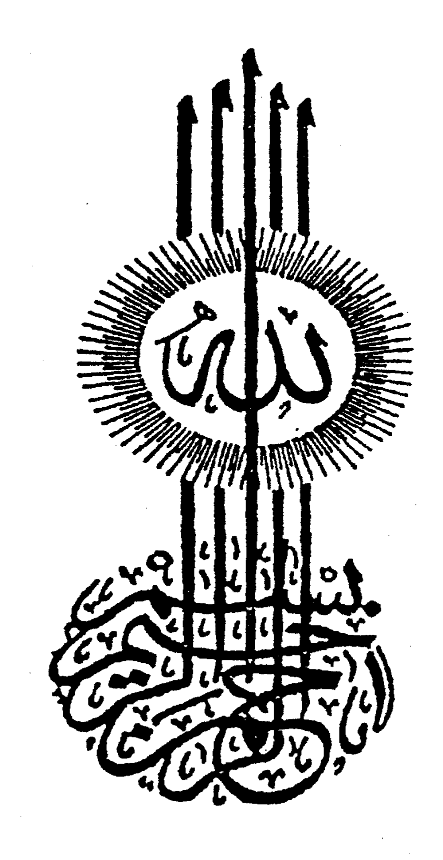


زراعة خلايا الكبد وآفاق جديدة للمستقبل

تأليف دكتور
يوسف عبد العزيز الحسانين
مدرس الكيمياء الحيوية والتغذية
كلية الإقتصاد المنزلي - جامعة المنوفية



﴿ وقل رب زدني علما ﴾



إهــداء

إلى الله في علاه .. إلي الحبيبين أبي وأمـي .. إلي بلدي الحبيـــب مصر التي أنفقت علي تعليمي وخلال سنوات الدراسة التي قضيتـها في بعثتي إلي أمريكا للحصول علي الدكتوراه

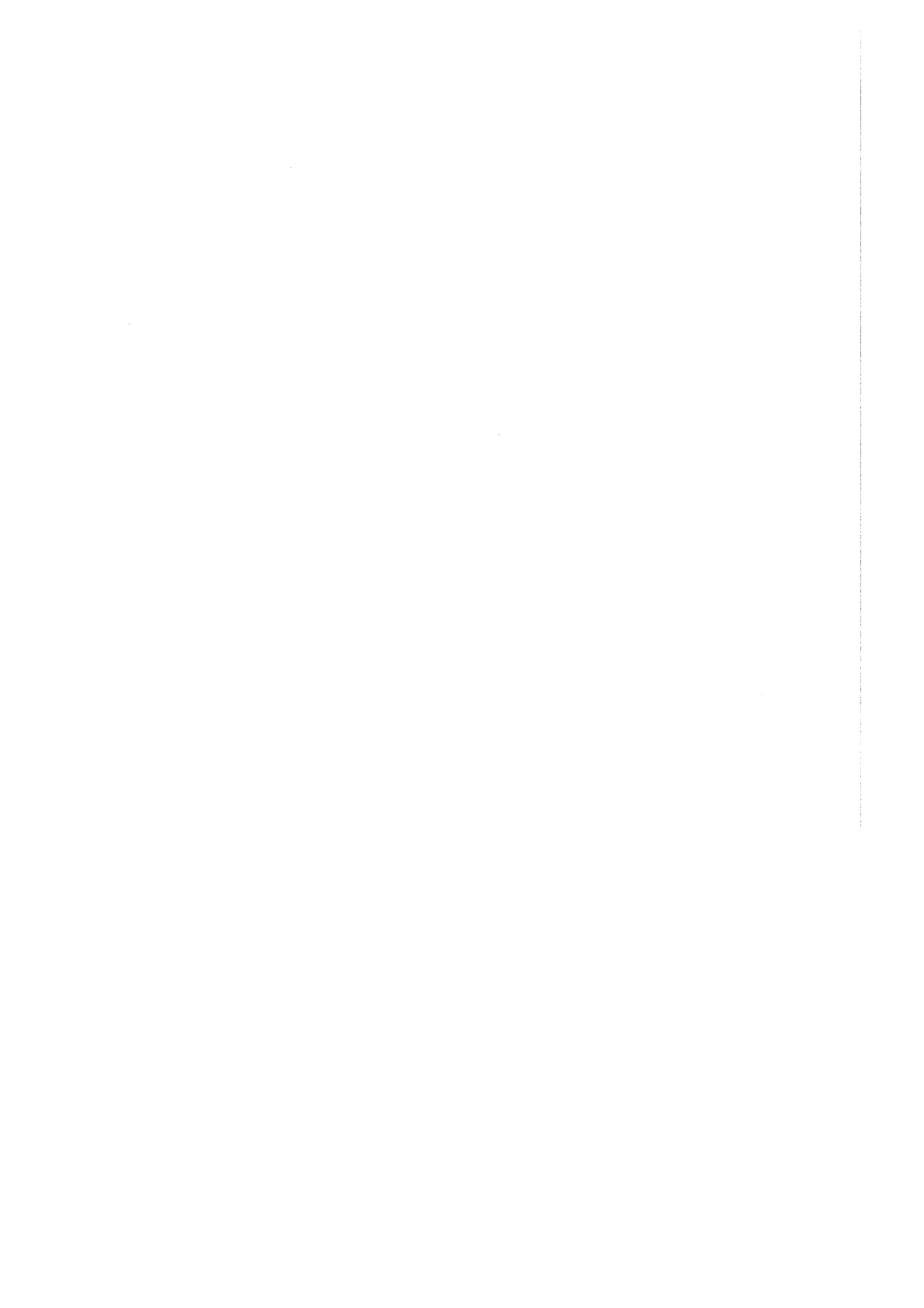
المحتويات

التقديم

في بداية ألفية جديدة .. ومع التقدم العلمي المذهل الذي انتاب الحياة على وجه اليابسة، يجد الإنسان نفسه في حاجة إلى معرفة كل ما هو وجديد في العلوم المختلفة. ولعل من أبرز تلك العلوم التي سوف تنال حظا وافرا من البحث والاهتمام في تلك الألفية الجديدة، هو علم التكنولوجيا الحيوية وتطبيقاتها المختلفة. ونحن وغيرنا الكثير من أبناء هذا البلد الطيب حاولنا ألا نكتفي فقط بالمعرفة من الآخرين، بل وفقنا الله سبحانه وتعالى وهدانا لأن يكون لنا إسهاما في هذا التقدم العلمي، وذلك من خلال ما قمنا به من أبحاث ودراسات عديدة على مدار عقد كامل من الزمان كان محصلته إنجازا علميا هاما تمثل في .. نجاح فصل وزراعة خلايا الكبد معمليا خارج الجسم.. وكذلك استغلال هذه الخلايا في العديد من التطبيقات العلمية والحيوية الهامة آلتي من المتوقع أن يكون لها إن شاء الله مردودا طيبا من الناحية العلمية والاقتصادية ..الخ.

وأود قبل استعراض عناصر هذه الدراسة أن أتوجه بعظيم شكري وخالص تقديري إلى الصرح العلمي الشامخ الذي أتشرف بالانتماء إليه وهو جامعة المنوفية متمثلا في السيد الأستاذ الدكتور/ **محمد محمد إبراهيم** رئيس الجامعة ، والسيد الأستاذ الدكتور/ **إبراهيم صديق على** نائب رئيس الجامعة لشئون خدمة المجتمع وتنمية البيئة، والسيد الأستاذ الدكتور/ **محمد مصطفى السيد على** عميد كلية الاقتصاد المنزلي ،على ما قدموه وما زالوا يقدموه لي من عظيم الدعم المادي والمعنوي لإخراج هذا العمل إلى حيز الوجود، وذلك بإقامة تلك الندوة العلمية الهامة التي تحمل عنوان " زراعة خلايا الكبد وآفاق جديدة للمستقبل" لشرح الجوانب العلمية المختلفة التي تم إنجازها من خلال هذا العمل ، وذلك في الرابع والعشرون من شهر يناير للسنة الأولى من الألفية الثالثة.. والله نسأل أن تعود هذه الدراسة العلمية بالفائدة والنفع على جميع الأخوة المتخصصون في المجالات العلمية المختلفة، وان يوفقنا دائما إلي ما فيه الخير لخدمة بلادنا ورفعة أوطاننا ،،،

دكتور/ يوسف عبد العزيز الحسانين
شبين الكوم في ٢٠٠٠/١/٢٤



تقـديم

فى ضوء إستراتيجية جامعة المنوفية حتى عـام ٢٠٢٠ والتـي تسـتهدف توظيف البحوث لخدمة البيئة وتطويرها . وفى إطار مواجهـه المشـكلات التـي تعترض الحفاظ على صحة المواطنين. وفى ضوء الزيادة المستمرة فـي إعـداد المصابين بأمراض الكبد والتي تؤدى إلى فقدان هائل فى القوة البشرية .

فقد اتجهت دراسات وأبحاث مجموعة من علماء جامعة المنوفية من قسـم التغذية ــ كلية الاقتصاد المنزلي إلى البحث في إمكانية زراعة خلايا الكبد في بيئة صناعية.

وقد ترتبت على نجاح هذه المجموعة من العلماء الشبان في زراعة خلايـا الكبد الخاصة بالأسماك في بيئة صناعية العديد من المجالات العلميـة والتطبيقيـة والتي من أهمها استخدام هذه الخلايا المزروعة في دراسـة وتفسـير ميكانيكيـة أحداث السرطان في الكبد بواسطة بعض ملوثات البيئة والغذاء الكيماوية الواسـعة الانتشار.

وكذا دراسة تأثير الفيتامينات كمواد مضادة وواقية لسرطان الكبد الحـادث بواسطة بعض المركبات الكيماوية.

وقد تم استخدام هذا النموذج البيولوجي فى قياس السمية الخلوية والتـأثيرات البيوكيماوية للمخلفات الصناعية السامة الملوثة للوسط المائي مثل مخلفات مصـانع الورق ــ شركة سيمو ببهتيم قليوبية وشركة مطـابع محـرم بـك بالإسـكندرية والصناعات البترولية.

هذا ويتيح هذا النموذج المعملي إمكانية استخدامه فى إنتاج بعض المركبات الحيوية الهامة مثل الألبيومين والجلوكوز والفيتامينات بصورة طبيعية ، وعلى نطاق صناعي وبتكاليف منخفضة والجامعة وهى تضع نتائج هذه الدراسات أمام مختلف الجهات لا يسعها إلا أن تتقدم بالشكر لكل من ساعد في هذا الإنجاز العلمي الذي يتيح آفاقا رحبة للتطور العلمي والتكنولوجي.

وعلى الله قصد السبيل .

أ.د/ إبراهيم صديق على

نائب رئيس الجامعة

لشئون خدمة المجتمع وتنمية البيئة

كلمة تقديم

بقلم

دكتور/ محمد مصطفى السيد على
أستاذ التغذية وعميد كلية الإقتصاد المنزل

لقد كانت سعادتي غامرة وأنا أقدم لهذا الإنجاز العلمي الكبـــير فـــي مجـــال زراعة الخلايا والتكنولوجيا الحيوية، والذي توصل إلية العالم الشاب الدكتور/ يوسف عبد العزيز الحسانين، المدرس بقسم التغذية – بكلية الاقتصاد المنزلي – جامعة المنوفية، نظرا لما قد يفتحة هذا الإنجاز من آفاق كبيرة في المستقبل ، وكلها بالتأكيد سوف تعود على البشرية بالخير والنفع. ويطيب لنفســـي أن أتقدم بخالص الشكر والتقدير إلى السيد الأستاذ الدكتور/ **محمد محمد إبراهيم** رئيس الجامعة ، والسيد الأستاذ الدكتور/ **إبراهيم صديق على** نائب رئيـــس الجامعة لشئون خدمة المجتمع وتنمية البيئة، واللذان كانا لهما عظيم الفضـــل فى تذليل كل السبل لنا لإخراج هذا العمل إلى حيز الوجود، وذلك بإقامة ندوة علمية تحمل عنوان " زراعة خلايا الكبد وآفاق جديـــدة للمســـتقبل" لشـــرح الجوانب العلمية المختلفة التي تم إنجازها من خلال هذا العمل وحتى تكـــون الفائدة أعم وأشمل. والله من وراء القصد وهو يهدى إلي سواء السبيل.

كلمة تقديم

بقلم

دكتور/ محمدى زكي الشنواني
أستاذ أمراض النبات
والمشرف على مركز الخدمة العامة بجامعة المنوفية

حقا إن العلماء ورثة الأنبياء، وهم مشاعل للنور، تضئ للناس حياتهم، حتى تعم الفائدة بعلمهم، الذي يزداد تأثيرة بإخلاصهم المعهود عنهم. وإن ندوة زراعة خلايا الكبد وآفاق جديدة للمستقبل والتي تنظمها جامعة المنوفية اليوم، تتصدى لمشكلة كبيرة .. ولعل الله من وراء هذا العمل البناء، وما سوف يعرض فيه من إنجازات علمية هامة، مثل العمل الذي بين أيدينا ونقدم له الآن ، والذي توصل إليها هذا العالم الشاب الدكتور/ يوسف عبد العزيز الحسانين مدرس الكيمياء الحيوية والتغذية - كلية الاقتصاد المنزلي - جامعة المنوفية، قدا ينعم بالشفاء على الآلاف من المرضى بأمراض الكبد، حتى يعود هؤلاء جزءا فاعلا في المجتمع، فمنهم الكثيرون اللذين يستطيعون بعد شفائهم تقديم خدمات جليلة للمجتمع كل فيما يعلم، وفيما تخصص فيه .

شكرا جزيلا.. ودعوة إلى الله من القلب لكل من وهب نفسة وعلمة لخدمة المجتمع والبيئة التي نعيش فيها، وهنيئا لجامعتنا الفتية بوجود العلماء الأفاضل الذين أسهموا في هذه الندوة وقد وقع أجرهم على الله تعالى.

المقدمة .. و الحاجة إلى هذا الإنجاز العلمي

يمثل الكبد أكبر وأهم غدة بجسم الفقاريات بدءا بالأسماك وانتهاءا بالإنسان، وذلك نظرا لما يقوم به هذا العضو من وظائف هامة تتمثل في تنظيم عمليات التحول الغذائي للمركبات الكربوهيدراتية، وانتاج بروتينات البلازما، وإزالة سمية المواد الغريبة السامة التي تدخل جسم الكائن الحي بطريقة مباشرة أو غير مباشرة. كذلك يعرف الكبد بأنة الحامل الرئيسي للكيماويات السامة مثل المبيدات والسموم الفطرية والمعادن الثقيلة الناتجة عن تلوث البيئة بالمخلفات والنفايات الصناعية والمركبات الهيدروكربونية عديدة الحلقات الناتجة عن التلوث بعادم السيارات ودخان السجائر والحرق غير الكامل للمخلفات الزراعية ...الخ. كل هذه العوامل وغيرها تجعل من خلايا الكبد النموذج الفريد والمثالي الذي يجب أن يستخدمه العلماء لدراسة أمراض الكبد، وأداة لقياس التسمم الكبدى، وكذلك دراسة نواتج التحولات الميتابلزمية للعقاقير والمركبات الغريبة التي تدخل جسم الإنسان.

وحديثا .. ظهر قلقا بالغا من تزايد عدد حالات المصابين بتليف وسرطان الكبد في الفقاريات شاملا ذلك الإنسان والأسماك والقوارض، ولقد ازداد القلق أكثر عندما بدأت هذه الظاهرة تأخذ شكل وبائي خطير،انتشر بين التجمعات السكانية والحيوانية، خاصة تلك التي تقطن البيئات الملوثة في كل أنحاء العالم بما في ذلك مصر. ولقد استلزم ذلك من العلماء أن يضاعفوا من مجهوداتهم وأبحاثهم لكي يتغلبوا على هذه الظاهرة والتي بادت تهدد كيان المجتمع وتقضى على أفراده وشبابه .. وهذا بالفعل ما بدأة العلماء في تجاربهم باستخدام حيوانات التجارب الكاملة وهو ما يطلق عليه مصطلح الـ *in vivo* system مثل القطط والكلاب والخنازير والأرانب والأسماك ...الخ كأدوات تجريبية لدراسة مدى تأثير مشكلة التلوث البيئي على وظائف الكبد، وكذلك البحث عن وسائل للحد من تأثيرها وامكانية علاجها.. إلا أن المشاكل الكثيرة التي قابلت العلماء في هذا النوع من التجارب قد مثلت عقبات صعب

إلى حد ما التغلب عليها، والتي تنحصر أهمها في الآتي:

- التكلفة العالية الناتجة عن استخدام عدد كبير من حيوانــــات التجــارب (مئات بل الآلاف للتجربة الواحدة)، وما يستتبع ذلك من لزوم الرعاية لهذه الحيوانات وتغذيتها.
- صعوبة التحكم في جميــــع الظــروف البيئيــة المحيطــة بالتجربــة environment والتي تشمل البيئة الهوائية بجميع مشتملاتها من درجــة حرارة ورطوبة نسبية وتلوث بيئي ...الخ).
- صعوبة الحصول على أفراد متجانسة ومتشابهة homogenicity مــــن حيوانات التحارب لضمان تطابق النتائج المتحصل عليها.
- التأثيرات التداخلية interactive effects بين الكبــد وبــاقي أعضــاء الجسم في الحيوانات المختلفة وهى ظاهرة يصعب رصدها وتحديدها.
- علاوة على الفترة الزمنية الطويلة long period of time التي تلزم لهذا النوع من التجارب والتي قد تمتد إلى العديد من السنوات .

كل هذه العوامل السابقة وغيرها دفعت الكثير من العلماء للتفكير فــــي أدوات بحثية بديلة يمكن بواسطتها التغلب على كل أو بعض مشاكل هذا النظام الســابق ولعل من أهم تلك الأدوات ما يتمثل في الآتي:

أولا: تجهيز مزارع أعضاء من الكبد.. Organ culture from the liver

ويتلخص هذا الأمر في عزل الكبد كاملا من حيوانــــات التجــارب المختلفة، والمحافظة عليه في بيئات غذائية مخصصة لهذا الغــوض بصــورة

حيه .ولكن العديد من العوامل التي تمثلت في عدم القدرة على التكاثر inability to propagating وكذلك صعوبة المحافظة علــى الصفــات البيوكيميائيــة والجزيئية biochemical and molecular criteria الوظيفية المميزة للكبد ، جعلت هذا العمل غير شائع التطبيق.

<u>ثانيا:</u> تجهيز سلسلة متصلة من خلايا الكبد المزروعة .. Cell lines

ويشتمل هذا التكنيك على فصل وزراعة خلايا الكبد فــــي البيئـــات الزراعية المغذية لأقصى فترات زمنية يتم خلالها المحافظــة علــى الخلايــا بصورة حية، ليتم بعدها نقل الخلايا إلى بيئات زراعة جديدة ... وهكذا .ولكـــن هذا التكنيك ينتابه العديد من العيوب التي يمكن حصرها فى عدم الثبات الوراثي genetic instability، عدم إظهار الصفات الوظيفية لتلك المـــزارع والتـــي تميزها كخلايا كبد dedifferentiation and biotransformation إلي غـــير ذلك للعديد من العوامل قد غيرت من خواص وصفات هذه المزارع الخلوية بعد فترات زمنية طويلة نسبيا من الزراعة .ولعل جميع تلك العوامل الســـابقة قـــد وضعت العديد من التساؤلات وعلامات الاستفهام أمام إمكانية اســـتخدام هـــذا النظام البيولوجي في التجارب الحيوية والسمية وكأساس للمقارنة بين الدراسات باستخدام الحيوان الكامل *in vivo* أو معمليا خارج الجسم *in vitro* .

<u>ثالثا:</u> تجهيز مزارع ابتدائية من خلايا الكبد .. Primary cell culture

نظرا للصعاب التي واجهت تطبيق النظم السابقة، فقد بدأ العلماء يدفعون بأنظارهم تجاه تجهيز مزارع ابتدائية من خلايا الكبد، والتي تتلخص في فصـــل وزراعة خلايا الكبد معمليا خارج الجسم فى البيئات المغذية والمخصصة لـــهذا الغرض في أواني خاصة بالزراعة، ولكن الكثير من المشاكل كانت عائقا أمـــلم تطور وتقدم هذا الاتجاه، والتي كان من أهمها:

- أن أكثر من ٤٠ % من خلايا الكبد الكلية لم تكن خلايا كبدية more than 40% of the total liver cells are non-hepatocytes، كما كان التكنيك الذي يستخدم في تنقية خلايا الكبد purification of hepatocytes كان على درجة عالية من التعقيد ويستغرق فترات زمنية طويلة، كل ذلك أدى إلى قصر إستخدامة على عدد قليل جدا من المعامل المتخصصة في كل أنحاء العالم.

- الاختلافات التي لوحظت في الخطوط الميتابوليزمية للخلايا المزروعة variability occurs in cell metabolic quality نتيجة لاختلاف الطرق والتقنيات التي تستخدم في الفصل والزراعة.

- قلة التصاق وانتشار الخلايا الكبدية بقاع أواني الزراعة hepatocytes attach and spread on cultures substrate very poorly

- الفقد السريع للأنشطة الإنزيمية الخاصة بالنظم الميتابوليزمية لخلايا الكبدية المزروعة the rapid loss of drug metabolizing activities، مما لم يتح الفرصة أمام أمام الباحثين لاستخدام هذه الخلايا كنموذج بيولوجي بديلا لحيوانات التجارب فى العديد من الدراسات البيوكيميائية والسمية، خاصة تلك المتعلقة بإجراء الدراسات الميتابوليزمية للمركبات الغريبة التي تدخل الجسم xenobiotic metabolism والتي تتطلب تعرض الخلايا للمركبات المختبرة لفترة زمنية طويلة. long - period of exposure

- بقاء المزارع الابتدائية لخلايا الكبد في حالة quiescent state in culture، والذي يعنى عدم ملاحظة انقسام نشط للخلايا المزروعة no active proliferation، وبالتالي لم تظل الخلايا حية معمليا خارج الجسم سوى بضع ساعات وربما كان أقصاها يوم واحد.

- وأخيرا .. وإضافة إلى ما سبق فإن استخدام نظام الـــ Two - stages perfusion في فصل خلايا الكبد كانت أيضا تمثل أحد العقبات الهامـــة فى تقدم هذا العمل، والذي كان اجراؤة يتطلب :أولا .. فصل الكبد كـــاملا من حيوانات التجارب، ثم إجراء ربط للوريد الكبـــدي وحقـــن بعـــض المحاليل الملحية المنظمة والمتخصصة خلاله بغرض تنظيفة من الـــدم. ثانيا .. هضم وفصل خلايا الكبد عن طريق الحقن بواسطة واحد أو أكثر من المحاليل الإنزيمية الهاضمة.

ولعل كل هذه الصعوبات كانت تتطلب توجيه المزيد من الدراسات والبحـــوث للتوصل إلى بروتوكولا يتم من خلاله إطالة فترة حياة تلك الخلايا فـــي بيئـــة الزراعة دون أن يؤثر ذلك على أنشطتها الخلوية، وكذلك إكساب تلك الخلايـــا الكبدية المزروعة القدرة على الانقسام ميتوزيا mitosis division في بيئـــة الزراعة.

التكنيك الذي استخدم في زراعة خلايا الكبد معمليا خارج الجسم

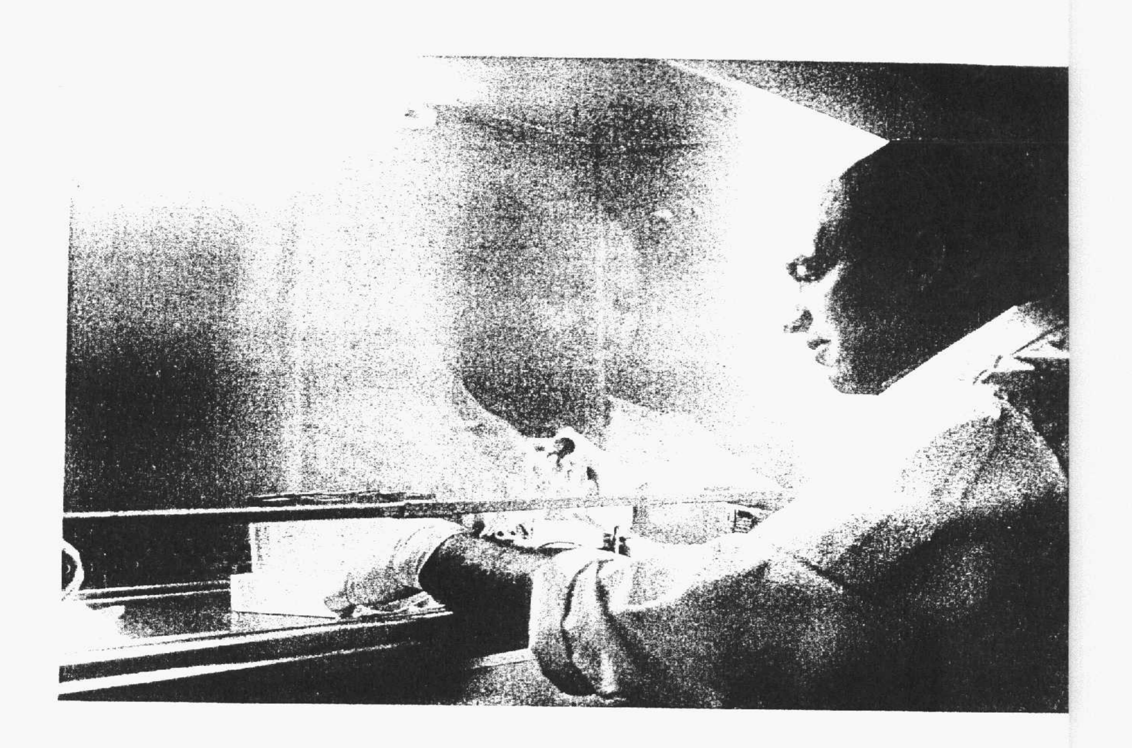
حديثا .. وبالتحديد في عام ١٩٩٣وبقسم العلوم البيئية التابع لمعـــهد فرجينيا لعلوم البحار بالولايات المتحدة الأمريكية كانت محاولاتنـــا وتحـــت إشراف فريق من العلماء الأمريكيين بقيادة الأستاذ الدكتور/ M. Faisal أستاذ علم المناعة ، والدكتور/ R. Huggette أستاذ الكيمياء ونائب رئيـــس وكالـــة حماية البيئة الأمريكية والتى استطعنا من خلالها أن نؤسس بروتوكولا يمكـن بواسطته فصل وزراعة خلايا الكبد المفصولة من سمك الـــ Spot معمليـــا خارج الجسم *in vitro* ، والتغلب على جميع الصعوبات التي واجهت العلمـاء السابقين المهتمين بهذا المجال.

ويمكن تلخيص هذا البروتوكول (أشكال رقم ٢،١) كما هـــو موضـــح فـــي الخطوات التالية:

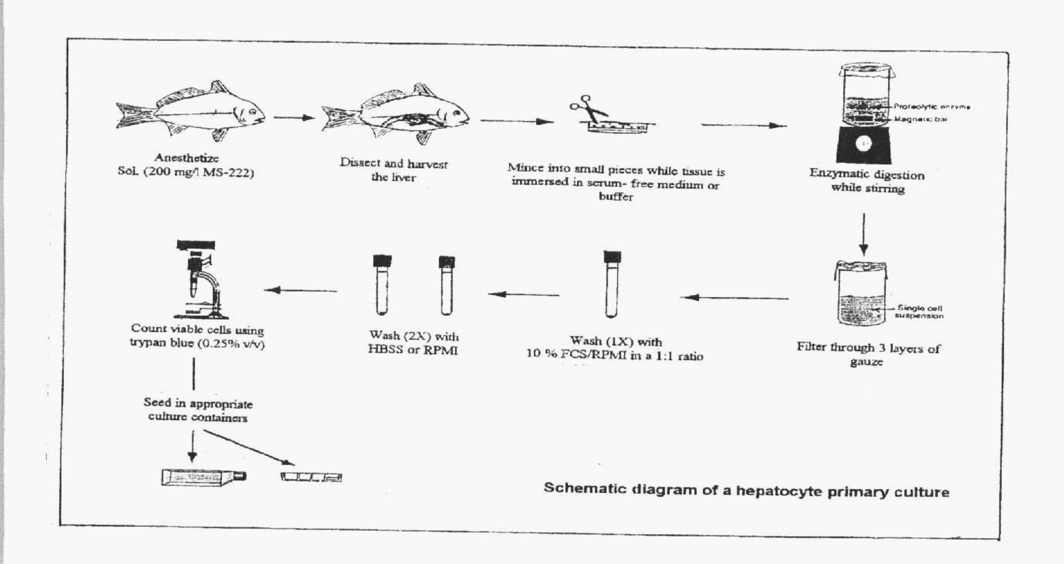
١. صيد الأسماك من الأنهار أو البحيرات ووضعـــها فـــي الأحـــواض الخاصة برعايتها في المعمل لمدة أسبوع وذلك لإزالة المجهود الزائـد والإنهاك الناتج عن عمليات الصيد، والذي ينتج عنه بعض المشـــاكل أثناء عمليات فصل وزراعة الخلايا.

٢. نقل الأسماك في جركل من البلاستيك بجوار كابينة الهواء المعقـم air laminar flow وتخديرها بواسطة محلول ٠,١ % MS-222 ...، ثـــم تؤخذ المقاييس الأنثروبوجينية (وزن الجسم – الطول) وذلك لحســـاب العائد من الخلايا منسوبا إلى وزن الجسم.

٣. إجراء تشريح للأسماك dissection لاستخراج الكبد منها ووضعة في طبق باكستر الذي يحتوى على (٥ مل من المحلول الملحي HBSS) ،



شكل رقم (١): صورة للدكتور/ يوسف عبد العزيز الحسانين وهو يقوم بفصل وزراعة خلايا الكبد بمعمل بحوث السوطان التابع لقسم العلوم البيئية بمعهد فرجينيا لعلوم البحار - أمريكا.



شكل رقم (٢): رسم تخطيطي يوضح التكنيك الذي أتبع في فصـــل وزراعة خلايا الكبد معمليا خارج الجسم .

ويجرى غسيل الكبد بهذا المحلول لأكثر من مرة للتخلص من الدم العالق.

٤. يصفى المحلول الملحي من الطبق ليتم بعد ذلك تقطيع الكبد به إلى جزيئات صغيرة باستخدام المقصات (كلما صغرت الجزيئات كلما سهل فصل عدد أكبر من الخلايا)، ثم ينقل المهروس إلى كأس زجاجي معقم بواسطة ٣ مل من المحلول الإنزيمي trypsin -EDTA solution والذي يتم وضعة على مقلب مغناطيسي لمدة ٢٠ دقيقة يتم خلالها فصل خلايا الكبد isolation عن بعضها البعض.

٥. يرشح المحلول الناتج على القماش (ثلاث طبقات من قماش الجبن) وذلك بغرض فصل الجزيئات الكبيرة من الكبد عن الخلايا المفصولة والتي يتم نقلها كميا إلى أنابيب باكستر للطرد المركزي بواسطة ١٥ مل من بيئة RPMI-1640 with FCS حيث يتم وضعها في جهاز الطرد المركزي على سرعة ٤٠٠٠ لفة/دقيقة ولمدة ٥ دقائق ، وذلك بغرض إيقاف نشاط إنزيم التربسين السابق إستخدامة في فصل الخلايا والذي يؤدى وجودة إلى هضم الخلايا وإتلافها.

٦. يجرى غسيل للخلايا مرتين متتاليتين بواسطة ١٥ مل من محلول HBSS حيث يتم وضعها فى جهاز الطرد المركزي على سرعة ٤٠٠٠ لفة/دقيقة ولمدة ٥ دقائق فى كل مرة. وبعد انتهاء مرحلة الغسيل يتم نشر خلايا الكبد المفصولة في ٥ مل من بيئة زراعة الخلايا RPMI-1640 with FCS ، ثم يجرى عد للخلايا المفصولة في المحلول باستخدام الـ Hemocytometer وصبغة الـ Trypan blue .

٧. يتم زراعة خلايا الكبد المفصولة بالعدد المناسب في أواني الزراعة

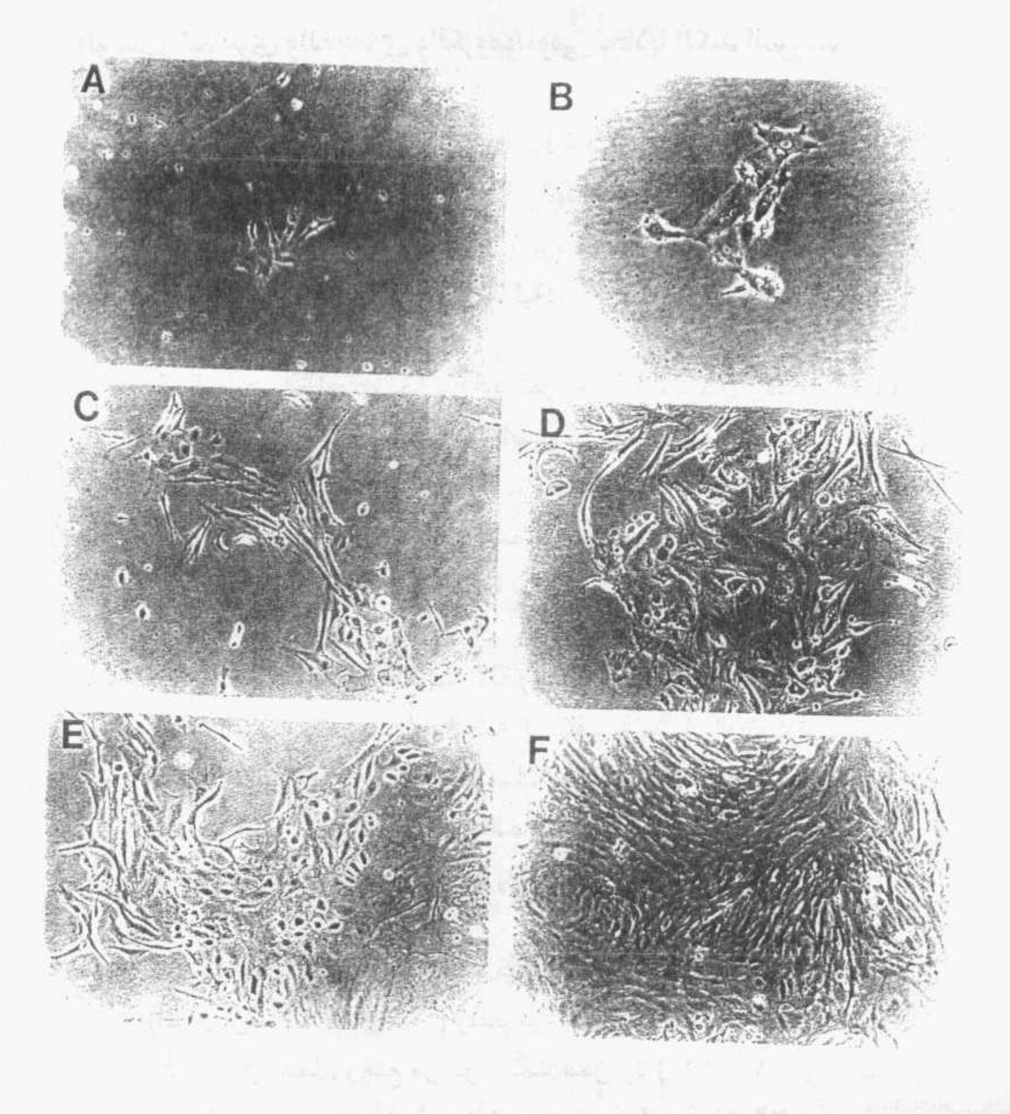
المخصصة لهذا الغرض (فلاسكات باكستر ٧٥ أو ٢٥٠ م (والتـــــي تحتوى على بيئات الزراعة الســائلة RPMI-1640 with FCS ، ثـــم توضع في الحضانات المضبوطة على ٣٧ درجة مئوية + ٥% ضغط من غاز ثاني أكسيد الكربون.

تم باستخدام التقنيات والأجهزة المعملية الحديثة دراسة الخواص الحركية kinetic studies والمورفولوجية والهستوكيميائية والوراثية لخلايا الكبد المفصولة والمزروعة على مدى ١١ يوم من بداية الزراعة. ولقد أظهرت النتائج المتحصل عليها النقاط التالية:

- دل الوصف الظاهري لخلايا الكبد المزروعة (أشكال رقم ٣، ٤) على أن معظمها قد التصق بقاع الطبق في خلال فترة وجيزة من زراعتها تراوحت ما بين ٤ - ٦ ساعات، واستمر زيادة هذه الخلايا حيث تكونت طبقة منتظمة منها تلتصق ببعضها البعض وغطت قاع الطبق كاملا بعد فترة تراوحت ما بين ٧ - ٩ يوم من بداية التجربة.

- أسفر الفحص بالميكروسكوب الإلكتروني لخلايا الكبد المزروعة (شكل رقم ٥) عن وجود عضيات الخلية المختلفة مثل الميتوكوندريا ، الشبكة الإندوبلازمية ، البيروكسومات ، الليسوسومات ، الجليكوجين ، أجسام دهنية . وكذلك شوهد أن الخلايا المزروعة تتصل ببعضها البعض من خلال أربطة بين خلوية.

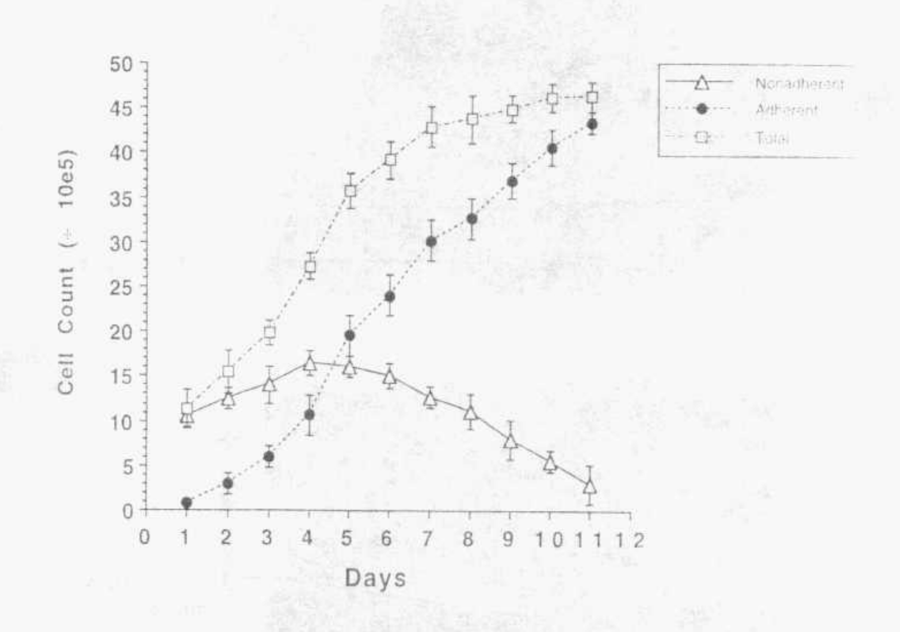
- أظهرت خلايا الكبد الناتجة قدرة كبيرة من التكيف للزراعة معمليا (أشكال رقم ٦، ٧، ٨ ، ٩) وذلك من خلال قدرتها على النمو والتكاثر في مجال واسع من درجات الحرارة (٢١ - ٢٧ درجة مئوية) ، في وجود أكثر من نوع من البيئات اللازمة للنمو ($RPMI$; L_{15}) ، كما أعطت الخلايا أفضل نمو على ضغط إسموزى للبيئة قدره ٣٣٠ مل إسموزى / كجم وكذلك في وجود ٥% ضغط من ثاني أكسيد الكربون بداخل جهاز التحضين.



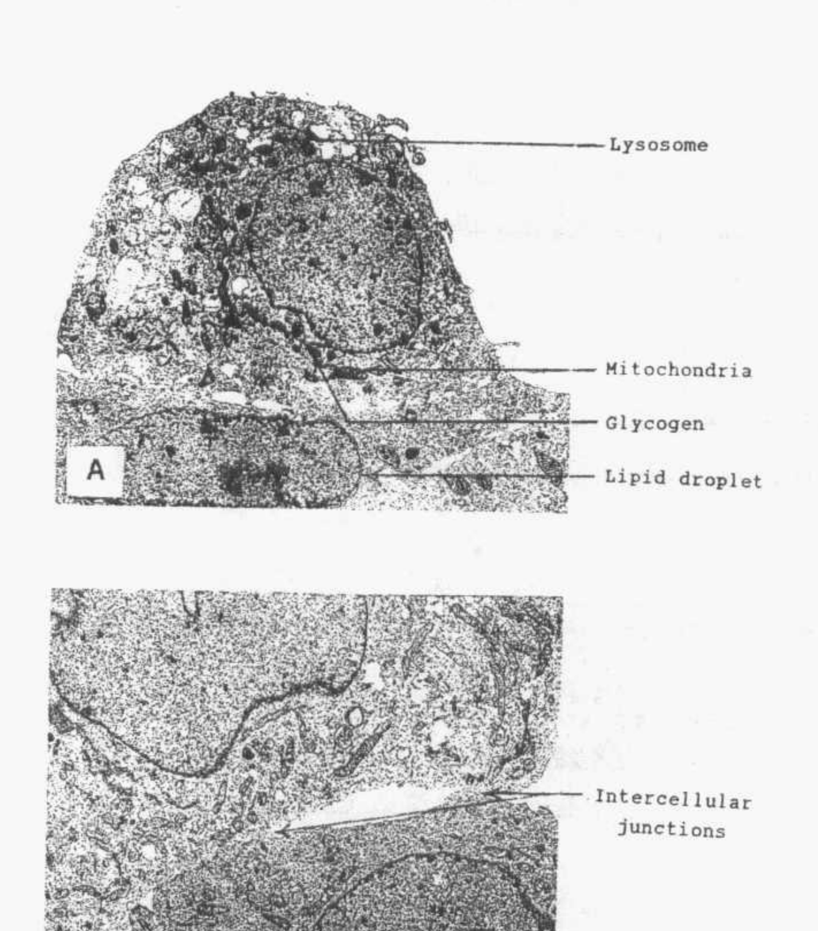
شكل رقم (٣): صورة لخلايا الكبد المزروعة بعد انقسامها في أواني الزراعة معمليا خارج الجسم وتكوينها طبقة منتظمة كاملة من الخلايا بعد ١١ يوم من الزراعة.

A - ٢ يوم   B - ٣ يوم   c- ٥ يوم

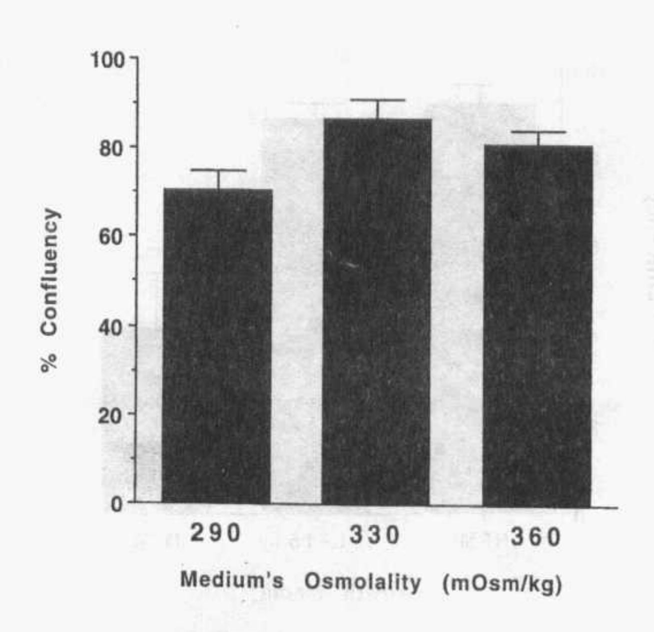
D - ٧ يوم   E - ٩ يوم   F- ١١ يوم



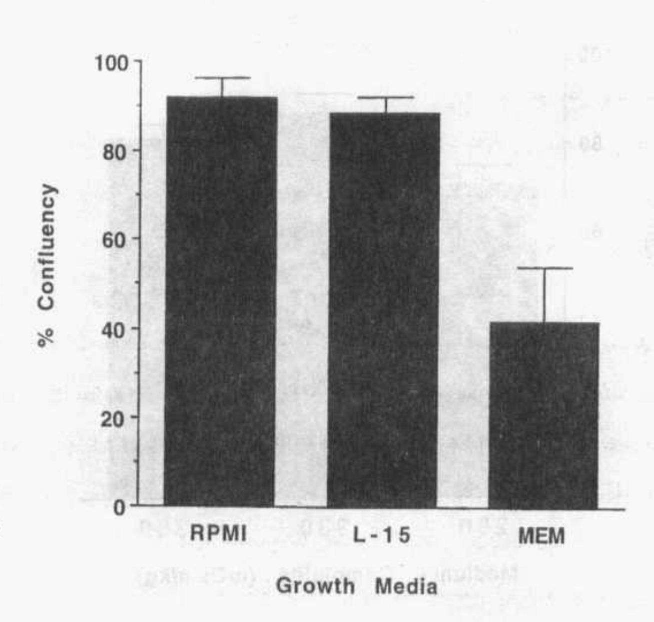
شكل رقم (٤): منحنى النمو لخلايا الكبد المزروعة والذي يوضح زيادة عدد الخلايا تدريجيا نتيجة الانقسام على مدار ١١ يوم من الزراعة.



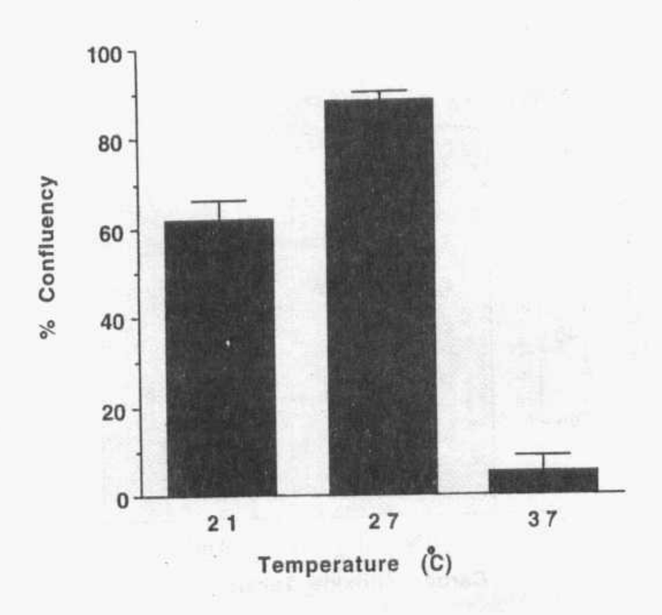
شكل رقم (٥): صورة بالميكروسكوب الإلكتروني توضح العضيات المختلفة لخلايا الكبد المزروعة وكذلك اتصـال الخلايـا ببعضـها البعض من خلال أربطة بيـن خلويـة.



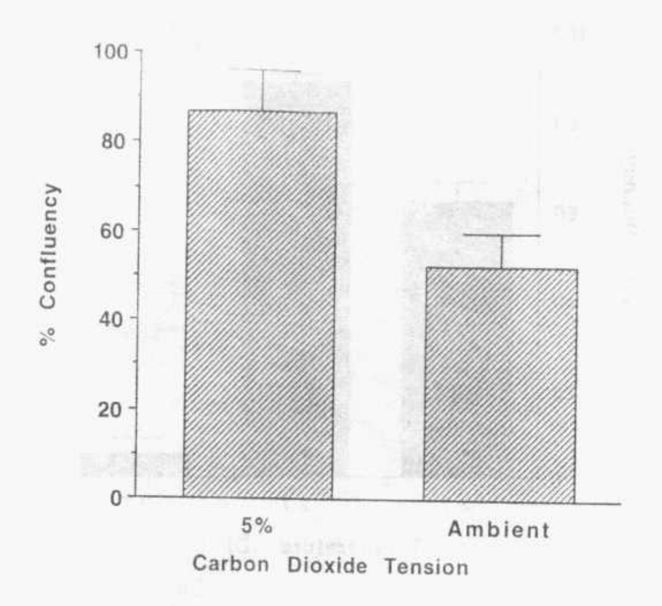
شكل رقم (٦): تأثير اختلاف درجة الأسموزية على نمو خلايـــا الكبد المزروعة.



شكل رقم (٧): تأثير اختلاف بيئة الزراعة على نمو خلايا الكبد المزروعة.



شكل رقم (٨): تأثير اختلاف درجة حرارة التحضين علـــى نمـــو خلايا الكبد المزروعة.



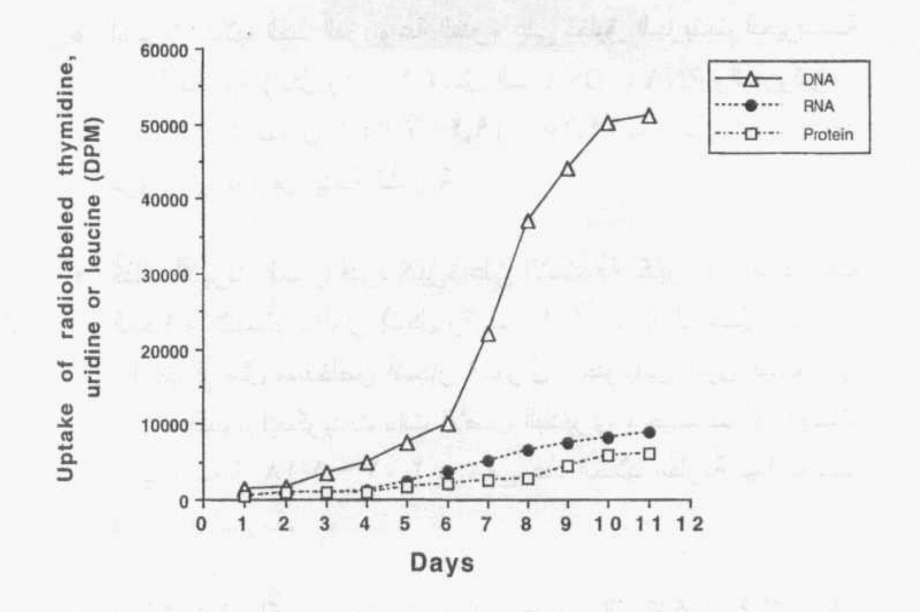
شكل رقم (٩): تاثير تواجد غاز ثاني أكسيد الكربون بهواء جهاز التحضين على نمو خلايا الكبد المزروعة.

- أظهرت خلايا الكبد المزروعة القدرة على تخليق الجزيئات الحيوية الهامة بالخلية (شكل رقم ١٠) مثل الـ DNA ، RNA والبروتين، حيث ازدادت بمعدل ٣٤,١ ، ١٩,٤١ ، ١٤,٢٥ مرة على الترتيب بعد مرور ١١ يوم من بداية التجربة .

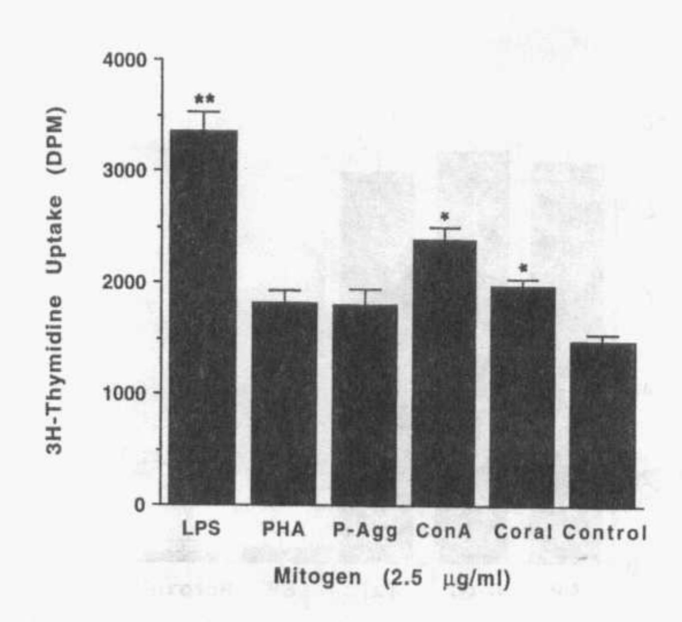
- كذلك أظهرت الخلايا قدرة كبيرة على الاستجابة لكثير من المركبات المحفزة للانقسام الخلوي (شكل رقم ١١)، ذات الأصل النباتي والبكتيري مثل مستخلص أشجار الكورال وأجلوتينين الفول السوداني وكذلك الليبوبوليسكريدات ذات الأصل البكتيري ، حيث تراوحت الزيادة بمعدل ١,١٨ - ٢,٠٦ مرة في عدد الخلايا مقارنة بهذا العدد في بداية التجربة.

- أعطت خلايا الكبد المزروعة معمليا الخواص الهستوكيماوية (شكل رقم ١٢) المميزة لها كخلايا كبد، حيث أعطت نتائج موجبة للإنزيمات التالية: الفوسفاتيز الحامضى ، البيتاجلوكورينيديز واختبار التترازوليم كما أظهرت تفاعلات سالبة مع إنزيم البيروأكسيديز.

- أظهر التحليل الكروموسومى (شكل رقم ١٣) احتواء خلايا الكبد المزروعة على عدد ٤٨ كر وموسوم ذو سنترومير طرفي، وهو العدد والشكل المميز لكروموسومات هذا النوع من الكائنات التي فصلت منها هذه الخلايا ، كما لم يشاهد أي تغيرات مورفولوجية ملحوظة بكروموسومات تلك المزارع الخلوية بدءا من اليوم الأول وحتى اليوم الحادي عشر من بداية التجربة .

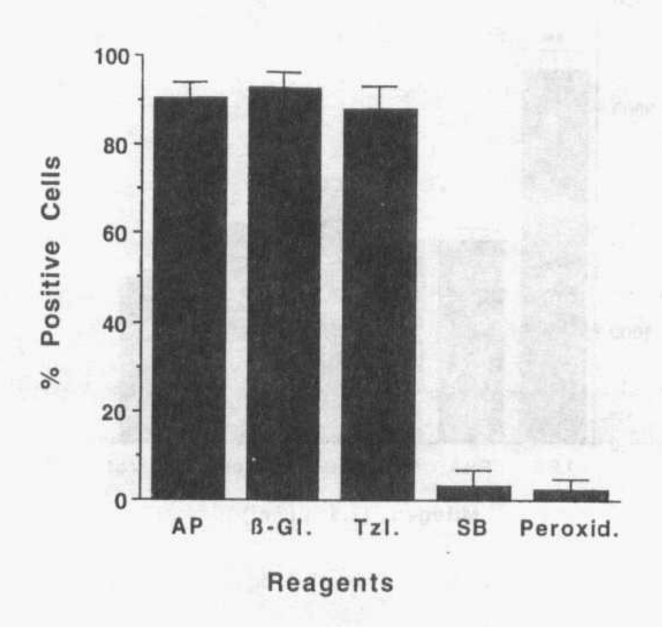


شكل رقم (١٠): تخليق الجزيئات الحيوية الهامة (البروتينات والأحماض النووية) بواسطة خلايا الكبد على مدار ١١ يوم من الزراعة .



شكل رقم (١١): استجابة خلايا الكبد المزروعة لبعض المركبـات المحفزة على الانقسام.

LPS : Lipopolysaccharide
P-Agg : Peanut agglutinin
Coral : Coral tree
PHA : Phytohemaagglutinin
ConA: Concanavalin A



شكل رقم (١٢): الخواص الهستوكيميائية لخلايا الكبد المزروعة

AP : Acid phosphatase	*B*-Gl: *B*-glucuronidase
Tzl : Nitroblue tetrazolium	SB : Sudan black B
Peroxide: Perioxidase	



شكل رقم (١٣): التحليل الكروموسومى لخلايا الكبد المزروعة والذي أظهر احتواء الخلايا على العدد والشكل المميز لكروموسومات هذا النوع من الكائنات التي فصلت منها هذه الخلايا.



التطبيقات العلمية الواسعة التي استخدمت فيها خلايا الكبد المزروعة كنموذج بيولوجي معملي بديلا لحيوانات التجارب

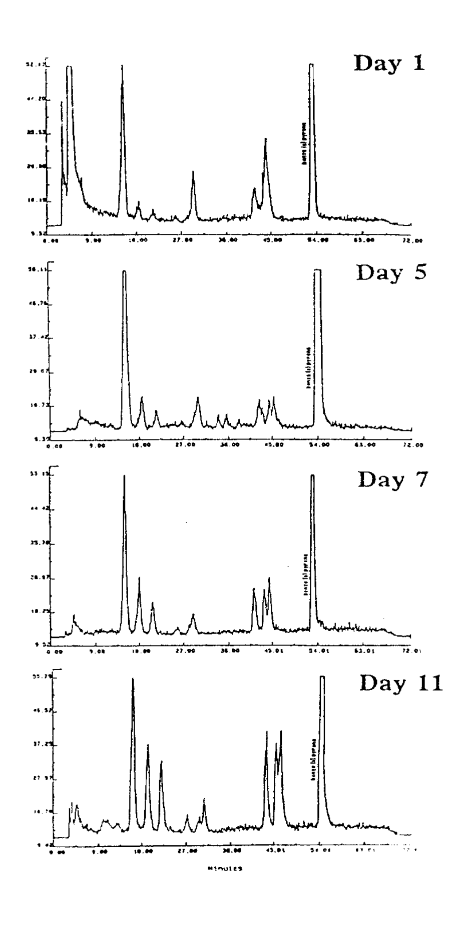
أولا : الدراسات الميتابوليزمية لمركب البنزوبيرين باستخدام خلايا الكبد المزروعة معمليا خارج الجسم.

- أظهرت النتائج (شكل رقم ١٤) قدرة هذه الخلايا على تمثيل وتحويل مركب البنزوبيرين إلى العديد من المركبات الوسطية، وذلك فيما هو معروف بالمركبات غير القطبية (الطور الأول) وقد اشتملت هذه المركبات على :

BP- 7,8-diol- 9,10-epoxide; BP- 9,10-dihyroxy- 9,10-dihydrodiol; BP- 7,8- dihydroxy- 7,8- dihydrodiol; 9-hydroxy -BP; 7-hydroxy -BP; 3-hydroxy -BP; BP- 6,12-dione.

- أظهر التقدير الكمي لهذه المركبات السابقة بالفيكومول/خلية أن مركب الـ 3-hydroxy-BP يمثل أعلى المركبات نسبة، ثم تلاه في ذلك المركبات التالية 9-hydroxy –BP ، 7-hydroxy-BP، BP-9,10-dihyroxy-9,10-dihydrodiol، BP-6,12-dione ، BP-7,8-diol-9,10-epoxideعلى الترتيب. ولقد مثلت المشتقات الهيدروكسيلية ٥, ٧٢% من اجمالى مركبات الطور الأول الناتجة لتمثيل البنزوبيرين، في حين مثلت المشتقات ثنائية الهيدروكسيل مضافا إليها ثنائية الهيدروكسيل الايبوكسيدية ٢٤, ١٩%.

- من جانب أخر لوحظ تكوين المركبات BP-7,8 diol- 9,10-epoxide ، 3-hydroxy –BP والتى تعرف بتأثيراتها السرطانية والسمية كنواتج

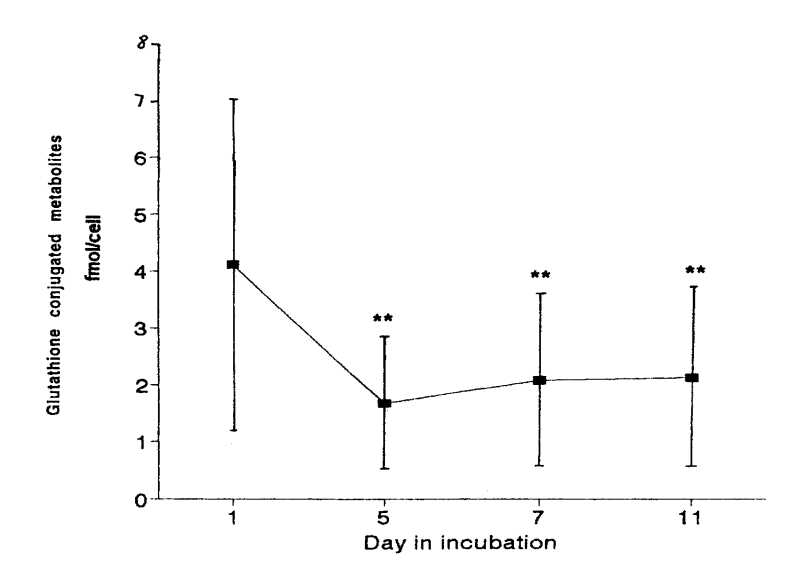


شكل رقم (١٤): نواتج التمثيل الميتابوليزمى الغير مرتبطة (الطور الأول) لخلايا الكبد المزروعة والمفصولة على جهاز التحليل الكرومـــاتوجرافى ذو السائل عالي الأداء .. HPLC) على مدار ١١ يوم من الزراعة.

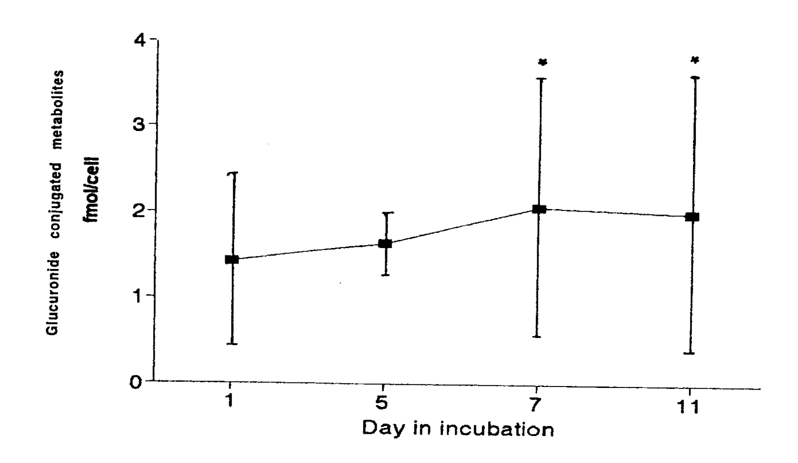
ميتابوليزمية للبنزوبيرين بعد تحضين الخلايا لمدة ١، ٥، ٧، ١١ يوم.

- استطاعت خلايا الكبد التخلص من مركبات الطــــور الأول phase I metabolites (unconjugated) ، وذلك من خلال ارتباطـــــها ببعــض المركبات الحيوية داخل الخلية (أشكال أرقام ١٥ ، ١٦ ، ١٧) مثـــل الكبريتات و الجلوكورونيدات و الجلوتاثيون، وذلك فيما هو معـــروف بنواتج التحول القطبيـــة (الطـــور الثـــاني) phase II metabolites (conjugated)، حيث لوحظت مستويات مختلفة من هـــذه المركبـــات المرتبطة بالمزارع الخلوية التي حضنت لمدة ١، ٥، ٧، ١١ يوم. كما كانت أكبر مركبات الطور الثاني المرتبطة في جميع المزارع الخلوية نسبة هو الجلوتاثيون، والتي تمثل ٧٤, ٥١% ثم تـــلاه فـــي ذلـــك الجلوكورونيدات والكبريتـــات بنســب ٨٦, ٣٦ ، ٤ , ١١% علـــى التوالي.

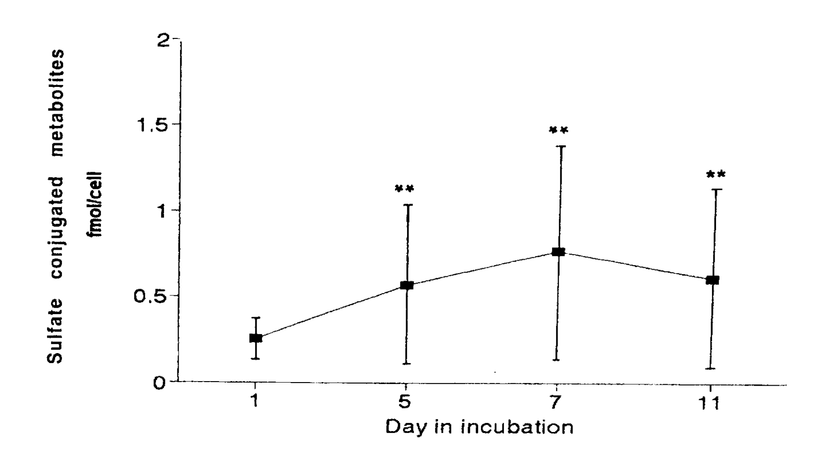
- كان لمركب البنزوبيرين القدرة على الارتباط بالجزيئـــات الخلويـــة المختلفة (شكل رقم ١٨) مثل البروتين ، المادة النوويـــة والـــــDNA والـــ RNA . حيث نتج عن إضافة ٣١٢ بيكومول بنزوبيرين إلـــي المزارع الخلوية المحضنة لمدة يوم واحـــد أن ارتبـــط ٩, ٢ ، ١,٤ بيكومول بكل من الـــ DNA , RNAعلى الترتيب، ثـــم زادت تلـــك النسبة الى ١, ٣ ، ٢,٥ بيكومول لنفس الجزيئـــات الخلويـــة علـــى الترتيب بالنسبة للمزارع المحضنة لمدة ١١ يوم.



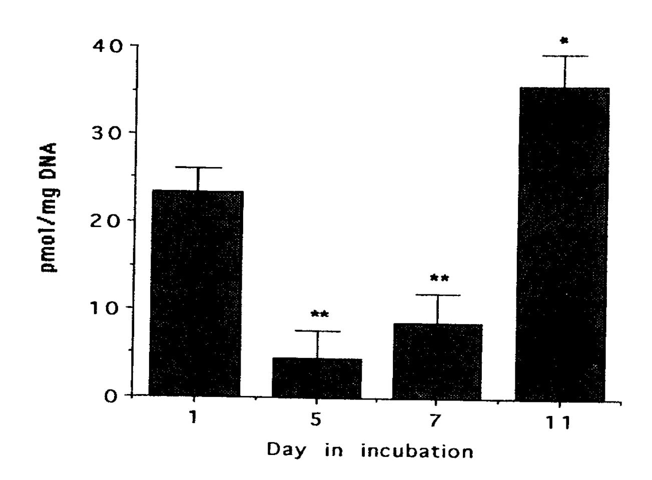
شكل رقم (١٥): نواتـــج التمثيـــل الميتـــابوليزمى المرتبطـــــة (الجلوتاثيون Glutathione) لخلايا الكبد المزروعة على مدار ١١ يوم من الزراعة.



شكل رقم (١٦): نواتـــج التمثيـــل الميتـــابوليزمى المرتبطـــة (الجلوكورونيد Glucuronide) لخلايا الكبد المزروعة علـــى مـــدار ١١ يوم من الزراعة.



شكل رقم (١٧): نواتج التمثيل الميتابوليزمى المرتبطة (السـلفيت Sulfate) لخلايا الكبد المزروعة على مدار ١١ يوم من الزراعة.



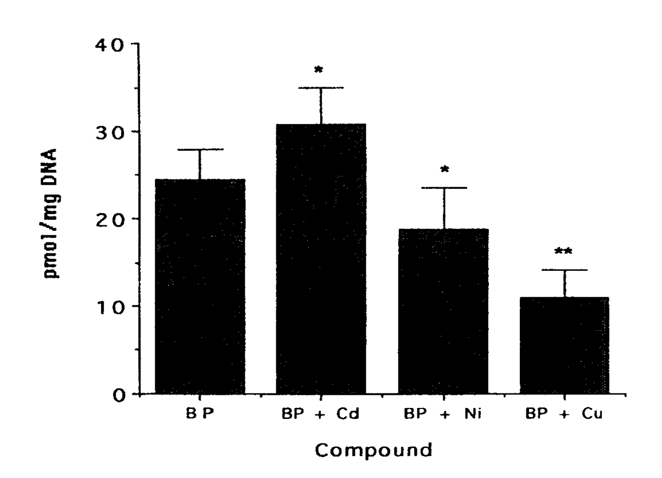
شكل رقم (١٨): ارتبـــاط البنزوبـــيرين بالحـــامض النــــووى الديوكس- ريبوزى لخلايا الكبد المزروعـــة لتكويــن (BP-DNA adduct) على مدار ١١ يوم من الزراعة.

ثانيا : التأثيرات التداخلية للمركبات الكيماوية الملوثة للبيئة وتأثير ذلك على إحداث السرطان بواسطة البنزوبيرين باستخدام خلايا الكبد المفصولة.

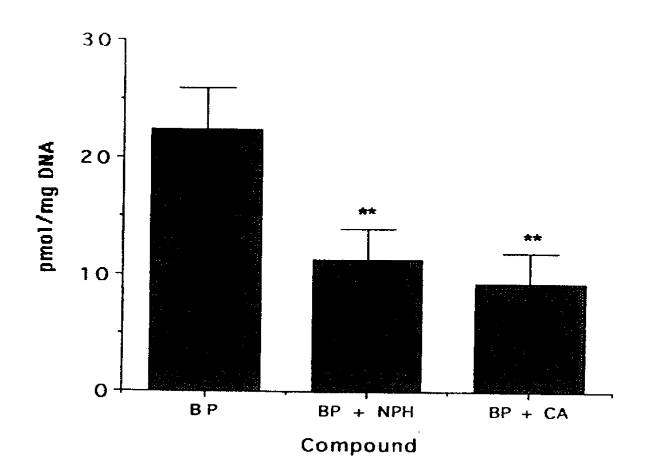
- من خلال دراسة تأثير بعض الملوثات غير العضوية مثل الكادميوم ، النيكل ، النحاس و العضوية مثل النفثالين ، الكافين على نسبة ارتباط البنزوبيرين بخلايا الكبد (أشكال رقم ١٩ ، ٢٠) ، فلقد وجد أن جميع تلك المركبات السابقة ما عدا النفثالين قد زادت من هذه النسبة بمقدار ٢,٠٢ – ٩,١٥%، كما ارتبطت أغلب هذه الزيادة من البنزوبيرين الداخلة للخلية بالبروتين.

- أحدثت المعاملة بالكادميوم مع البنزوبيرين زيادة في نسبة تكوين الـ BP-DNA adducts بمعدل ٢٦,١٢ %، بينما أدت المعاملة بالنيكل والنحاس والنفثالين والكافين إلى نقص تلك النسبة بمعدل٢٣,٤٥ ، ٤٥,٩ ، ٤٩,٥٣ ، ٥٨,٢٢ % على الترتيب.

- توضح الاختلافات السابقة فى معدل تكوين الـ BP-DNA adducts أن الملوثات غير العضوية والعضوية تؤثر على درجة إحداث السرطان بواسطة البنزوبيرين عن طريق ميكانيكيات مختلفة، والتي يجب أخذها في الاعتبار في الدراسات التوكسوكولوجية لمثل تلك المركبات .



شكل رقم (١٩): التأثيرات التداخلية للمركبات الغير عضوية علـــى ارتباط البنزوبيرين بالحامض النووى الديوكس- ريبــوزى (BP- adduct DNA).

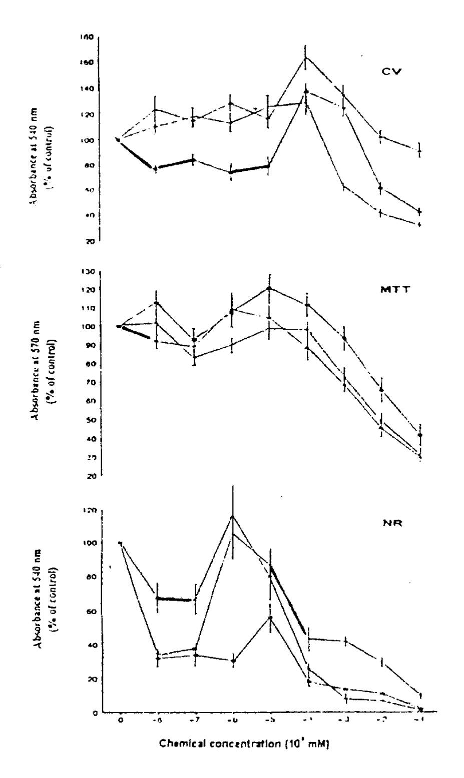


شكل رقم (٢٠): التأثيرات التداخلية للمركبات العضويـــــة علـــى ارتباط البنزوبيرين بالحامض النووي الديوكس- ريبــوزى (-BP DNA adduct).

ثالثا : قياس السمية الخلوية والتأثيرات البيوكيماوية للملوثات المائية باستخدام خلايا الكبد المفصولة.

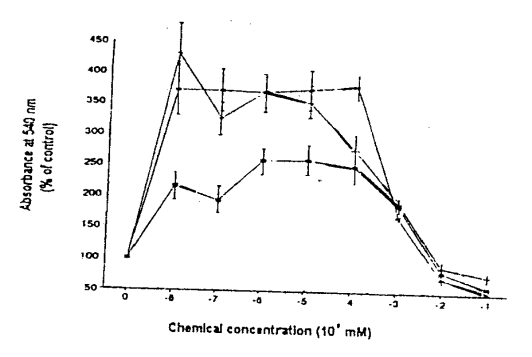
- تمت في هذه الدراسة تقييم مدى إمكانية استخدام خلايا الكبد المفصولة من سمك الـ Spot كنموذج معملي في اختبارات السمية الخلوية للمعادن الثقيلة مثل الكادميوم ،النيكل ، وكذلك المركبات الهيدروكربونية العطرية عديدة الحلقات مثل النفثالين (أشكال رقم ٢١ ، ٢٢)، حيث زرعت الخلايا في أطباق ٩٦ عين بمعدل ١ × ١٠ ° خلية/ عين ، وأضيفت المواد المختبرة السابقة بمعدل ١, ٠جزء في المليون، حيث كانت مقاييس الامتصاص الضوئي كنسبة مئوية من العينة البلانك كالتالي: ١,٢ -١١٦,٩ ، ٢٩,٢ - ١٢٠,٩ ، ٣٠,٧ - ١٦٣,٩ بالنسبة لإختبارات الأحمر المتعادل والتترازوليم وبنفسجى الكريستال على الترتيب، مما أوضح أن اختبار الأحمر المتعادل كان أكثر الإختبارات السابقة حساسية .

- أوضحت النتائج من خلال الـ dose-response curves ان هناك تطابق كبير بين اختبارات السمية الخلوية مثل الأحمر المتعادل والتترازوليم وبنفسجى الكريستال والمقاييس البيوكيماوية مثل معدل النمو ونشاط إنزيم البروتييز. وبالمقارنة بين المواد الكيماوية السامة المختبرة طبقا لتركيز كل مادة اللازم للقضاء على نصف عدد الخلايا تحت الاختبار، أتضح أن النيكل أكثر تلك المواد سمية تلاه في ذلك الكادميوم ثم النفثالين. إضافة على ذلك، كان ترتيب اختبارات السمية والمقاييس البيوكيماوية على أساس درجة الحساسية بالنسبة للمركبات المختبرة كالتالي: الأحمر المتعادل ، نشاط إنزيم البروتييز ، معدل النمو ، بنفسجي الكريستال ثم التترازوليم.

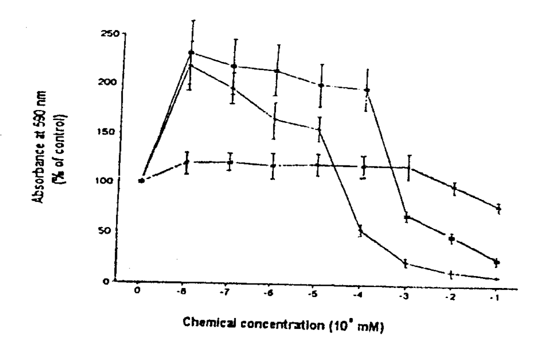


Cytotoxicity of Cd (□), NI (+), and NPH (*) in the neutral red (NR), tetrazolium (MTT), and crystal violet (CV) assays. The data are expressed as the means ± SD.

شكل رقم (٢١): التأثيرات السامة الخلوية لبعض المركبات الغير عضوية والعضوية على خلايا الكبد المزروعة معمليا خارج الجسم.



The influence of Cd (□), NI (+), and NPH (*) on the growth of primary Spot hepatocytes (as determined by protein analysis). The data are expressed as the means ± SD.

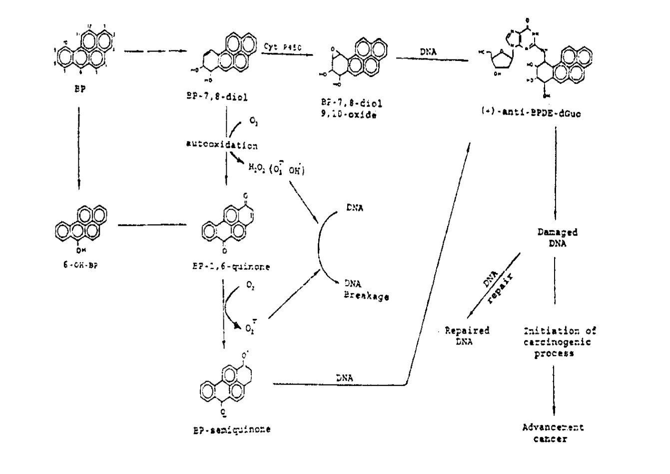


The influence of Cd (□), NI (+), and PNH (*) on the protease activity of primary Spot hepatocytes. The data are expressed as the means ± SD.

شكل رقم (٢٢): التأثيرات السامة البيوكيماوية لبعض المركبات الغير عضوية والعضوية على خلايا الكبد المزروعة معمليا خارج الجسم.

بعض الظواهر العلمية التي استخدمت خلايا الكبد المزروعة في تفسيرها

تم استخدام هذا النموذج من خلايا الكبد المزروعة في دراسة وتفسير بعض الظواهر العلمية الهامة، والتي كان من أهمها ما قمنا به من دراسة ميكانيكية إحداث السرطان في الكبد بواسطة بعض ملوثات البيئة والغذاء الكيماوية واسعة الانتشار مثل المركبات الهيدروكربونية العطرية عديدة الحلقات مثل البنزوبيرين والنفثالين (شكل رقم ٢٣)، أيضا دراسة تأثير الفيتامينات كمواد مضادة وواقية لسرطان الكبد الحادث بواسطة بعض المركبات الكيماوية الملوثة للغذاء (شكل رقم ٢٤). ولقد أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في هذا المضمار قدرا هائلا من الرضى والقبول فى جميع الأوساط العلمية محليا وعالميا.



شكل رقم (٢٣): ميكانيكية إحداث السرطان في الكبد بواسطة بعض ملوثات البيئة والغذاء الكيماوية واسعة الانتشار وهو البنزوبيرين والتي تم دراستها بواسطة خلايا الكبد المزروعة معمليا خارج الجسم.

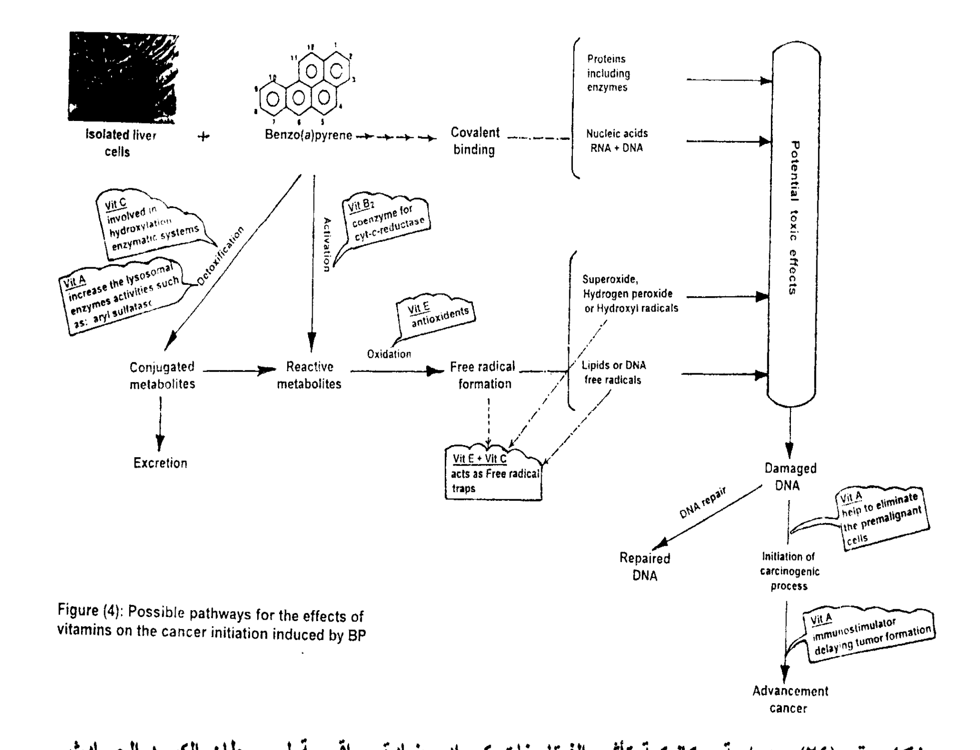


Figure (4): Possible pathways for the effects of vitamins on the cancer initiation induced by BP

شكل رقم (٢٤): دراسة ميكانيكية تأثير الفيتامينات كمواد مضادة ووقايـــة لســرطان الكبــد الحــادث بواسطة بعض المركبات الكيماوية الملوثة للغذاء وهو البنزوبيرين والتي تم دراستها بواســطة خلايــا الكبد المزروعة معمليا خارج الجسم.

التطبيقات العلمية الواسعة التي استخدمت فيها خلايا الكبد المزروعة كنموذج بيولوجي معملي بديلا لحيوانات التجارب

في خلال السنوات الأخيرة قمنا بإجراء دراسات تطبيقية عديدة في مجال تلوث البيئة والغذاء والكيمياء الحيوية وذلك باستخدام هذا النموذج من خلايا الكبد المزروعة والتي كان من أهمها .. دراسة مدى تأثير الملوثات البيئية المختلفة ومقدرتها على إحداث سرطان الكبد ، وقياس السمية الخلوية والتأثيرات البيوكيماوية للمخلفات الصناعية السامة الملوثة للوسط المائي مثل مخلفات مصانع الورق والصناعات البترولية، الكشف عن سمية وتأثير بعض المركبات الكيماوية الملوثة للغذاء مثل المعادن الثقيلة والمبيدات والمركبات الهيدروكربونية العطرية عديدة الحلقات حيث توجد الأخيرة بكثرة في الأغذية المحروقة الموجودة بقاع أواني الطبخ والتي يتلذذ الكثيرون في التغذية عليها وكذلك الأغذية المشوية على الفحم، وكذلك دراسة تأثير الفيتامينات كمواد مضادة وواقية لسرطان الكبد الحادث بواسطة الملوثات الكيماوية ....الخ. ولقد أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في هذا المضمار والتي تم عرضها ونشرها في المؤتمرات العلمية المتخصصة عالميا ومحليا قدرا هائلا من النجاح. وسوف نقوم الآن بعرض ملخصات لتلك الدراسات السابقة.

البحث الأول:

FORMATION OF DNA ADDUCTS AND ACTIVATION OF BENZO(*a*)PYRENE BY ISOLATED LIVER CELLS OF SPOT FISH (*LEIOSTOMUS XANTHURUS*) *IN VITRO*

Faisal, M. [*] **; Elhassaneen, Y.A.** [**]**; and Hassan, R.** [***]

* Department of Environmental Science, Virginia Institute of Marine Science, The College of William and Mary, Virginia, USA.

** Department of Nutrition and Food Science, Faculty of Home Economics, Minufyia University, Shebin El-Kom, Egypt.

*** Department of Agriculture Chemistry, Faculty of Agriculture, Mansoura University, Mansoura, Egypt.

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are groups of ubiquitous environmental contaminants. They enter the atmosphere, the terrestrial and the aquatic environments via two general processes natural and anthropogenic. Benzo(*a*)pyrene (BP) is represent one of the most extensively studied carcinogenic PAHs. The mechanism of action of this compound inside the liver cells is still not fully understood. Some of the reasons that restricted this work are the difficulty to establish in vitro systems from the liver that could qualitatively and quantitatively model in vivo hepatic biochemical processes. Recently, a procedure was developed by our investigations to isolate and maintain functional liver cells of spot fish (*Leiostomus xanthurus*) for 11 days. In the present study we examined if this model of primary culture have the ability to convert BP into its reactive metabolites and form adducts with their cellular macromolecules. To achieve this work, isolated liver cells were cultured in 24-well tissue culture plates and incubated with [^{3}H]- BP for 24 hours prior to harvest on days 1, 5, 7, and 11. Unconjugated (phase I) and conjugated (phase II) metabolites were extracted from the culture supernatants with

acetone and ethyl acetate and analyzed by reverse phase HPLC and LSC. It was found that isolated sopt liver cells metabolized BP generated 7 reactive metabolites includes 7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide; 9,10-dihydroxy-9,10-dihydrodiol; 7,8-dihydroxy-7,8-dihydrodiol; 9-hydroxy-BP; 7-hydroxy-BP; 3-hydroxy-BP and diones-BP. When the isolated spot liver cells exposed to 1 μCi [^{3}H]- BP for 24 hours, these metabolites recorded 130, 430, traces, 710, 490, 910 and 240 fmol/cell respectively. Phase II enzymes of BP metabolism (glutathion-s-transferase, UDP-glucuronosyl transferase, and sulfotransferase) recorded higher activities. Also, BP-adducts with DNA, RNA, and proteins of exposed hepatocytes were detected. No significant differences in BP metabolism or adduct formation could be identified with the progress in culture. The results indicated that Spot isolated liver cells are capable of biotransformation BP and formation DNA adduct for extended periods of time (11 days). Consequently, it could be served as useful research model for investigating the mechanism of action of different xenobiotics in the future.

المرجع:

Faisal, M.; **Elhassaneen, Y.A.;** and Hassan, R. (1995): Formation of DNA adducts and activation of xenobiotics by hepatocytes of Spot (*Leiostomus xanthurus*) *in vitro*. Fish Health Section of the American Fisheries Society and the Eastern Fish Disease Workshop, (July 19-22), Syracuse, New York.

البحث الثاني:

التأثيرات التداخلية للبنزوبيرين والمركبات الكيماوية الأخرى الملوثة للبيئة وتأثير ذلك على احداث السرطان بواسطة ذلك المركب بإستخدام خلايا الكبد المفصولة من سمك الـ SPOT

رمضان أحمد حسن *، و فوزي محمود شهاب الدين *، يوسف عبد العزيز الحسانين **

* قسم الكيمياء الحيوية – كلية الزراعة – جامعة المنصورة.

** قسم التغذية وعلوم الأطعمة – كلية الإقتصاد المنزلي – جامعة المنوفية

تم دراسة تأثير بعض الملوثات غير العضوية (الكادميوم – النيكل – النحاس) والعضوية (النفثالين – الكافين) على السرطان الحادث بواسطة البنزوبيرين . ولقد وجد أن بعض الجزيئات الحيوية لخلايا الكبد المفصولة مثل البروتينات و الأحماض النووية خاصة الحامض النووي الديوكسي- ريبوز لها القدرة علي ربط البنزوبيرين و تكوين adducts ، و التي من المعتقد انها تمثل الخطوة الأولى في إحداث السرطان بواسطة ذلك المركب. و لقد أحدثت المعاملة بالكادميوم مع البنزوبيرين زيادة في نسبة الـ BP-DNA adducts بمعدل ٢٦,١٢ % ، بنما أدت المعاملة بالنيكل والنحاس والنفثالين والكافيين إلى نقص تلك النسبة بمعدل ٢٣,٤٥ ، ٥٤,٩٠، ٤٩,٥٣، ٥٨,٢٢ % على الترتيب. ويوضح ذلك أن الملوثات غير العضوية والعضوية تؤثر على درجة إحداث السرطان بواسطة البنزوبيرين عن طريق ميكانيكيات مختلفة، والتي يجب أخذها في الاعتبار عند الدراسات السمية لتلك المركبات.

INTERACTIVE EFFECTS OF BENZO(A)PYRENE AND XENOBIOTIC CHEMICALS ON BENZO(A)PYRENE CARCINOGENICITY OF LIVER SPOT (*LEIOSTOMUS XANTHURUS*) HEPATOCYTES

Ramadan A. Hassan*, Fawzy M. Shehab El-Din* and Yousif A.Elhassaneen **

* Dept. of Biochemistry, Fac. of Agriculture, Mansoura University, Mansoura, Egypt.
** Nutrition and Food Sciences Dept, Fac. of Home Economics, Menoufia University, Shebin El-Kom, Egypt.

The effects of inorganic (Cd. Ni and Cu) and organic (naphthalene and caffeine) pollutents on the benzo(a)pyrene (BP) carcinogenicity were studied. It was found that isolated sopt hepatocytes macromolecules such as proteins and nucleic acids have the ability to bind with BP and form adducts. It is beleived that the formation of BP-nucleic acids adducts in particular DNA is to be the first step in the cancer initiation by this compound. The formation of BP-DNA adducts have been shown to increased by the application of Cd with BP by 26.12%. However, Ni, Cu, NPH and CA application with BP inhibited the same adducts formation by 23.45, 54.90, 49.53 and 58.22% respectively. The present results indicated that inorganic and organic pollutents can be affected on BP carcinogenicity by different mechanisms pathways. The interactive effects of other commonally environmental pollutents and BP should be carefully considered on the BP toxicological studies.

المرجع:

Hassan, R.A.; F.M. Shehab El-Din and **Y.A. Elhassaneen** (1996): Interactive effects of benzo(*a*)pyrene and xenobiotic chemicals on benzo(*a*)pyrene carcinogenicity of liver Spot (*Leiostomus xanthurus*) hepatocytes. Conference on Food Borne Contamination & Egyptian's Health (Nov. 26-27).Faculty of Agriculture, University of Mansoura. 249-259.

البحث الثالث:

قياس السمية الخلوية والتأثيرات البيوكيماوية لملوثات الوسط المائى بإستخدام خلايا الكبد المفصولة من سمك الـ Spot •

يوسف عبد العزيز الحسانين *، رمضان أحمد حسن **، و فوزي محمود شهاب الدين **

* قسم التغذية وعلوم الأطعمة – كلية الاقتصاد المترلي – جامعة المنوفية

** قسم الكيمياء الحيوية – كليـــة الزراعة – جامعة المنصورة •

تمـــت فـــى هـــذه الدراســـة تقـــيـيم مدى إمكانية أســتخدام خلايا الكبد المفصولة من سمك الـــ Spot كنموذج معملى فى إختبـــارات الســمية الخلوية (الأحمر المتعادل – التترازوليم – بنفســـجى الكريســتال) وكذلــك التقديرات البيوكيماوية (معدل النمو – نشاط إنزيم البروتييز) وذلك باســتخدام بعض المعايير المتخصصة فى هذا المجال • كما إستخدمت مجموعتين مــن المركبـــات الكيميائيـــة وهـــى المعـــادن الثقيلـــة (الكـــادميوم – النيكـــل) والهيدروكربونات عديدة الحلقات (النفثالين) كمثـــال للمركبـــات الكيماويـــة المختبرة • ولقد أوضحت النتائج أن مقاييس الإمتصاص الضوئـــى بالنســبة لخلايا الكبد المفصولة (كنسبة مئوية من العينـــة البلانـــك) كـــانت ٢ر١ – ٩ر١١٦، ٢ر٢٩، ٩ر١٢٠، ٧ر٣٠ – ٩ر١٦٣ بالنسبة لإختبارات الأحمـــر المتعادل والتترازوليم وبنفسجى الكريستال على الـــترتيب كمـــا أن إختبـــار الأحمر المتعادل كان أكثر الإختبارت الســـابقة حساســـية تجـــاه المركبـــات الكيميائية المختبرة • وعند إجراء المقارنة بين تلك المركبات المختبرة طبقـــا لتركيز كل مادة اللازم للقضاء على نصف عدد الخلايا تحت الإختبار إتضـــح أن النيكل أكثر تلك المواد سمية تلاه فى ذلك الكادميوم ثم النفثالين • كمـــا أوضحت النتائج أن هناك تطابق كبـــير بيـــن إختبـــارات الســـمية الخلويـــة والمقاييس البيوكيماوية حيث كان ترتيب تلك الإختبارات على اساس درجـــة الحساسية بالنسبة للمركبات المختبرة كالتالى: الأحمر المتعادل – نشاط إنزيم البروتييز – معدل النمو – بنفسجى الكريستال ثم التترازوليم •

IN VITRO CYTOTOXICITY TESTING AND BIOCHEMICAL EFFECTS OF AQUATIC POLLUTANTS USING PRIMARY SPOT (*LEIOSTOMUS XANTHURUS*) LIVER CELLS

Elhassaneen, Y. A.*, **R. A. Hassan**** **and F. M. Shehab El-Din****

* Nutrition and Food Sciences Dept, Fac. of Home Economics, Menoufia University, Shebin El-Kom, Egypt.
** Dept. of Biochemistry, Fac. of Agriculture, Mansoura University, Mansoura, Egypt.

The suitability of the primary Spot liver cells for use as a target system for in vitro cytotoxicity testing (natural red, NR; tetrazolium, MTT and crystal violet, CV) and biochemical assays (growth assay, GA; and protease activity, PA) were evaluated using several endpoints. Two classes of chemicals, heavy metals (Cd and Ni) and polycyclic aromatic hydrocarbons (NPH) served as the representative test agents. Results revealed that Spot primary liver cells had the absorbance measurements (as a percent of control) of 1.2-116.9; 29.2-120.9; and 30.7-163.9 for NR, MTT, and CV assays respectively. So, NR assay is more sensitive than the other assays. According to midpoint cytotoxicity values, the sequence of potency of tested toxicants were Ni > Cd > NPH in all assays. The present data also demonstrated that, the dose-response curves of cytotoxicity testing corresponded well to those with biochemical assays. The sequence of sensitivity for the different cytotoxicity testing and biochemical assays in all tested toxic substances were NR > PA > GA > CV > MTT.

المرجع:

Elhassaneen, Y.A.; , R.A. Hassan and F.M. Shehab El-Din, (1996): *In vitro* cytotoxicity testing and biochemical effects of

aquatic pollutants using primary spot (*Leiostomus xanthurus*) liver cells. Conference on Food Borne Contamination & Egyptian's Health (Nov. 26-27). Faculty of Agriculture, University of Mansoura. 249-259.



البحث الرابع:

دراسات بيوكيماوية وسمية على تلوث الأسماك بمخلفات مصانع الورق معمليا خارج الجسم

يوسف عبد العزيز الحسانين *، ألفت محمد رشاد خاطر *، ليلى محمد توفيق *

مصطفى ابراهيم سند**

* قسم التغذية وعلوم الأطعمة- كلية الاقتصاد المترلي- جامعة المنوفية- شبين الكوم- مصر.

** قسم الكيمياء الحيوية- كلية الزراعة- جامعة المنصورة- المنصورة- مصر.

استخدمت فى هذه الدراسة خلايا الكبد المفصولة من سمك الـ Spot كأداة تجريبية لتقدير التأثيرات السامة لإحدى الملوثات الكيميائية واسعة الانتشار فى البيئة المائية وهى المخلفات الناتجة عن صناعة الورق بجمهورية مصر العربية. ولقد أوضحت النتائج التى أمكن الحصول عليها أن بعض التأثيرات السامة الخلوية مثل تعطل وظائف الليسوسومات والميتوكوندريا قد لوحظت فى خلايا الكبد عند التركيزات المنخفضة من تلك المخلفات السامة. حيث كانت مقايس الامتصاص الضوئي بالنسبة لوظائف خلايا الكبد المفصولة (كنسبة مئوية من العينة البلانك) بالنسبة لدرجة نشاط الليسوسومات و الميتوكوندريا هى ٤٠,٦ – ١٢٠,٦ ، ٤١,٩١ – ٩٧,٣٥ على الترتيب. لذلك كانت الليسوسومات أكثر تأثرا تجاة تلك المركبات الكيميائية المختبرة. علاوة على ذلك فانه قد تم دراسة تأثير تلك المركبات المختبرة على بعض المقاييس البيوكيماوية مثل معدل النمو ونشاط انزيم البروتييز فى خلايا الكبد حيث لوحظ أن هناك تطابق كبير بين تلك المقاييس واختبارات السمية الخلوية . لذلك فان نتائج تلك الدراسة يمكن أن تمثل بداية طيبة تجاه استخدام هذا النموذج المعملي المبسط والغير مكلف من خلايا الكبد المزروعة للكشف عن تلوث الغذاء والوسط المائى. إضافة إلى ذلك فقد أوضحت تلك الدراسة مقدار التهديد الحقيقي الذى تسببة تلك المخلفات الناتجة عن مصانع الورق بجمهورية مصر العربية بالنسبة لخلايا الكبد فى الأسماك وبالتالى للأفراد الذين سوف يتغذون على تلك الأسماك فيمابعد.

IN VITRO BIOCHEMICAL AND TOXICOLOGICAL STUDIES ON POLLUTION OF FISH WITH PAPER INDUSTRY EFFLUENTS

Yousif A. Elhassaneen* , Olfat M. Khater * Lylaa M. Tawfeek* and Mostafa I. Sanad**

* Dept. of Nutrition and food Science, Faculty of Home Economics, Menoufia University, Shebin El- Kom, Egypt.
** Dept of Biochemistry, Faculty of Agriculture, Mansoura University, Mansoura, Egypt.

Liver cells isolated from Spot fish (Leiostomus xanthurus) were used as an experimental instrument in order to assess the toxic effects of some Egyptian paper industry effluents which represent a wide spread contaminant on the aquatic environment. The obtained results indicated that some cytotoxic effects such as lysosomes and mitochondria dysfunction were observed on the liver cells at the lower concentrations of this toxic chemical. For lysosomes and mitochondrial activity, the absorbance measurements (as a percent of control) were 40.6-120.6 and 41.91-97.35 respectively. So, liver lysosomes is more sensitive to paper industry effluent than mitochondria. On the other side, the influence of paper industry effluent on the biochemical assays such as growth assay (GA, as determined by protein analysis) and protease activity (PA) of isolated liver cells were determined in a trial to make a comparison between biochemical and cytotoxicity assays. The present data demonstrated that lysosomes and mitochondrial activity were corresponded well to those with GA and PA assays. The results of this study can constitute a milestone toward application of the simple inexpensive cell culture to monitor aquatic organisms and food pollution. In addition to, it is demonstrated that the Egyptain paper industry effluent constitute a realy threaten to the liver cells in fish, consequently to the people who will eat this polluted fish after that.

المرجع:

Elhassaneen, Y. A.; Khater, O.M.; Tawfeek, L.M. and Sanad, M. (1997): *In vitro* biochemical studies on pollution of fish with paper industry effluents. Second Egyptian Conference of Home Economics (25-26 May), Faculty of Home Economics, Menoufia University, Egypt.



البحث الخامس:

تأثير الفيتامينات على قدرة إحداث السرطان بواسطة بعض ملوثات الغذاء الكيماوية المسببة للسرطان معمليا خارج الجسم

يوسف عبد العزيز الحسانين ، الفت محمد رشاد خاطر، أحمد أمين موسى

قسم التغذيه وعلوم الأطعمه – كليه الإقتصاد المترلى – جامعه المنوفيه – مصر

تم في هذه الدراسة تقيم مدى تأثير الفيتامينات على قدره مركب البنزوبيرين والذي يعد أكثر الملوثات الكيماوية المسببة للسرطان شيوعا في الغذاء على إحداث السرطان في خلايا الكبد المفصولة من الأسماك. حيث تم فصل خلايا خلايا الكبد من سمك الـ Spot وزرعتها في مسطح الزرع النسيجي بكثافة ٥ × ١٠^٦ /٧٥ مل ثم حضنت على درجة ٢٧ درجة مئوية لمدة ٣ أيام حتى غطت الخلايا مسطح الزارعة بالكامل. تم بعد ذلك إضافة المركبات المختبرة إلى الخلايا المزروعة في معاملات منفردة كالتالي: الخلايا + الفيتامينات ، الخلايا + مركب البيزوبيرين وأخيرا الخلايا + الفيتامينات +البينزوبيرين وذلك لمده ٢٤ ساعه قبل فحصها. ولقد وجد أن مركب البنزوبيرين له القدرة على الارتباط بالجزيئات الحيوية بخلايا الكبد المفصولة مثل البروتينات والأحماض النووية، والتي يعتقد أنها الخطوه الأولى في احداث السرطان بواسطة ذلك المركب خاصة في حالة إرتباطة بجزيئات الـ DNA الخاصة بالخلايا وتكوين ما يعرف بالـ BP-DNA adducts. ولقد أدت المعاملة بالفيتامينات مثل البيتا-كاروتين ، وفيتامين هـ ، وفيتامين ب١٢ ، فيتامين جـ إلى نقص ارتباط البنزوبيرين بجزيئات الـ DNA بنسبه ٣١، ١١، ٢٤، ٣٥% على الترتيب. بينما أدت المعاملة بواسطة فيتامين ب٢ إلى زيادة في الارتباط بنسبه ٩٩%. كذلك أوضحت النتائج أن تأثير الفيتامينات على قدره مركب البيزوبيرين في إحداث السرطان قد يرجع الى تأثيرها على الطرق الميتابولزمية لمركب البنزوبيرين أوعلى عدد خلايا الكبد المزروعة ومدى قدرتها على البقاء حية. لذلك تقترح هذه الدراسة أن بعض الفيتامينات يمكن أن تستخدم كعوامل واقيه جيده ضد الإصابة بالسرطان الناتج من تناول بعض الملوثات الكيماوية الشائعة بالغذاء مثل البينزوبيرين.

THE EFFECT OF VITAMINS ON THE CANCER INITIATION INDUCED BY SOME FOOD CHEMICAL CARCINOGENIC POLLUTANTS *IN VITRO*

Yousif A. Elhassaneen [*], Olfat M. Khater [*] and Ahmed A. Morsi [**]

* Dept. of Nutrition and Food Science, Faculty of Home Economics, Menoufian University, Shebin El-Kom, Egypt

** Dept. of Nutrition and Food Science, Faculty of Home Economics, Helwan University, Cairo, Egypt

The effects of vitamins on the carcinogenicity of benzo(a)pyrene (BP) which represent a common food pollutant were evaluated by using of isolated liver cells. Spot (Leiostomus xanthurus) fishes liver cells primary cultures were prepared at a density of $5x10^7$ cells/75 ml flask and incubated for 3 days at 27 ^oC to become a complete confluent. The cultured cells were incubated individually with vitamins, BP, and vitamins + BP for 24 hours subsequent to harvest. It was found that isolated Sopt liver cells' macromolecules such as proteins, RNA, and DNA have the ability to bind BP and form adducts. BP-DNA Adduct formation that is believed to be the first steps in the cancer initiation by BP have been shown to decrease by the application of vitamins such as β-carotene, E, B_{12} and C with BP by 31, 11, 24 and 35% respectively. On the other side, vitamin B_2 application with BP activated the same adducts formation by 99%. The present data also demonstrated that the effect of vitamins against BP carcinogenicity is probably due to their effects on BP metabolic Pathways, and cultured liver cells numbers and viability. This investigation suggested that some vitamins can use as a good preventive factor against cancer initiation by some common food chemical carcinogenic pollutants for example BP.

المرجع:

Elhassaneen, Y.A; Khater, O.M. and Morsey, A.A. (1997): The effect of vitamins on the cancer initiation induced by some food chemical carcinogenic pollutants *in vitro*. The Second Conference: The Role of Women and Egyptian Associations in Environment Protection and Community Development (25 - 26 August), Dept. of Home Economics, Faculty of Agriculture, Alexandria University, Egypt.



البحث السادس:

تجهيز مزارع إبتدائية من خلايا الكبد المفصولة من الأسماك لإستخدامها كنموذج بيولوجى معملى فى بحوث التغذية وعلوم الأطعمة والكيمياء الحيوية والسموم والسرطان

يوسف عبد العزيز الحسانين

قسم التغذية وعلوم الأطعمة - كلية الإقتصاد المترلى - جامعة المنوفية - مصر

ظهر فى الآونة الأخيرة قلقا عالميا بالغا بخصوص تواجد بعض المركبات الكيميائية السامة فى الغذاء سواءا أكان ذلك طبيعيا أو ناشئا عن فعل الإنسان. لهذا فقد حاولت الكثير من الدراسات توضيح الآثار الضارة لهذه المركبات على صحة الإنسان، ورغم ذلك فإن أغلب هذه التأثيرات ما زال غير معروف حتى يومنا هذا. ولعل من أهم أسباب ذلك هو صعوبة معالجة أوجه القصور التى قد تنشأ من جراء إستخدام حيوانات التجارب المختلفة مثل الفئران والكلاب والخنازير والأسماك والضفادع كأدوات تجريبية فى التجارب الخاصة بدراسة إختبارات السمية والتحولات الميتابلزمية لهذه المركبات الكيميائية السامة والتى تتمثل فى: صعوبة التحكم فى العوامل البيئية المختلفة والمحيطة بالحيوانات أثناء فترة التجربة، تحتاج هذه التجارب إلى فترة طويلة من الوقت لإتمامها، صعوبة الحصول على مكررات تجريبية كثيرة متماثلة ومتجانسة سواءا بالنسبة لنفس التجربة أو للتجارب المختلفة، هذا إضافة إلى التكلفة العالية اللآزمة لإنهاء مثل هذه التجارب. كل هذه العوامل السابقة وغيرها دفعت العديد من العلماء إلى البحث عن نماذج بيولوجية جديدة تغنى عن إستخدام هذه الحيوانات فى الإختبارات المختلفة الخاصة بدراسة التأثيرات الضارة لهذة المركبات الكيميائية السامة، شريطة أن تتوافر بهذه النماذج الجديدة درجة من الحساسية بالنسبة لهذه الإختبارات السابقة تشبه على الأقل تلك التى توجد فى حيوانات التجارب السابق الإشارة إليها. وحديثا فقد قمنا بتطوير بروتوكول لعزل خلايا الكبد، والتى غالبا تعد بمثابة الموضع والهدف الأساسى لهذه المركبات الكيميائية السامة،

من الأسماك. ولقد أظهرت هذه الخلايا المنزرعة عدة مميزات هامة تتمثـــل في: بقائها في بيئة الزراعة حية ومؤدية لجميع الوظائف المنوطة بها كخلايـا كبدية لفترة طويلة من الوقت إمتدت لأكثر من إحدى عشر يومـــا، قدرتـــها الفائقة على الإتصال ببعضها البعض من خلال أربطة بين خلويـــة وكذلـك إلتصاقها بمسطح الزرع النسيجي، القدرة الكبيرة على النمو التكاثر لتكـــون طبقة سمك خلية واحدة تغطي مسطح الزرع النسيجي في فترة وجيزة، علـــى درجة عالية من الثبات الوراثي ، التكلفة البسيطة. كذلك فقد تبين من خــلال الدراسات العديدة التي قمنا بها إمكانية إستخدام هذا النموذج البيولوجي الجديد معمليا وبنجاح كبير كأداة تجريبية في إجراء العديد من البحـــوث المتعلقــة بالمجالات المختلفة مثل تغذية الإنسان، وعلوم الأطعمة، والكيمياء الحيويـــة، والسموم، والسرطان..

PRIMARY CULTURE OF ISOLATED FISH HEPATOCYTES: BIOLOGICAL MODEL FOR NUTRITION, FOOD SCIENCE, BIOCHEMISTRY, TOXICOLOGY AND CANCER RESEARCH

Yousif A. Elhassaneen

Dept. of Nutrition and food Science, Faculty of Home Economics, Minufiya University, Shebin El-Kom, Egypt.

There is an increasing international concern about the presence of natural and man-made toxic chemicals in foods. Several studies have been tried to investigate the adverse effects of these toxic chemicals on human health but almost of them are still not fully understood. Some of the reasons that restricted this work are the major disadvantages that could not be overcome when different whole organisms such rats, mousses, dogs, fish, toads, and bigs using in biotransformation and toxicity testing. The disadvantages include difficult control of the environment, takes long period of time, hardest characterization and homogeneity, and higher costs. Consequently, There is a great need to

develop an alternate biological models which can be used in assessment the adverse effects of these toxic chemicals with at least equal sensitivity to the whole organisms. Recently, a protocol was developed by our investigation to isolate hepatocytes i.e., often the specific target for chemical toxins, from fish (Spot, Leiostomus xanthurus). This model of cells possess obvious advantages like attach to each other and to the culture substrate, survive for relatively extended periods of time (more than 11 days), proliferated forming confluent monolayer, genetic stability, diversity of origin, ability to screen large numbers of samples and low cost. In addition to, our previous investigations showed that, this new biological system could be used successfully as an experimental tool in human nutrition, food science, biochemistry, toxicology, and cancer research.

المرجع:

Yousif A. Elhassaneen (1998): " Primary culture of isolated fish hepatocytes: Biological model for nutrition, food science, biochemistry, toxicology and cancer research. The Scienctific fifth conference for Home Economics (5- 6 May), Faculty of Home Economics. Helwan University, Egypt. (Mini reviews).

البحث السابع:

خلايا الكبد المفصولة من الأسماك: نموذج بيولوجي معملي جديد لإنتاج المستحضرات الحيوية

يوسف عبد العزيز الحسانين

قسم التغذية وعلوم الأطعمة - كلية الاقتصاد المنزلي - جامعة المنوفية - مصر

يتم إنتاج العديد من المستحضرات الحيوية بما فيها الأمصال واللقاحات في وقتنا الحاضر باستخدام الكائنات الحية المختلفة مثل الفئران والكلاب والأسماك والضفادع والخنازير ..الخ، إلا أن هذا الخط من البحوث مازال يعانى من الكثير من الصعوبات آلتي تواجهة والتى تتمثل في: صعوبة التحكم في العوامل البيئية المختلفة والمحيطة بالحيوانات أثناء فترة التجربة، تحتاج هذه التجارب إلى فترة طويلة من الوقت لإتمامها، صعوبة الحصول على مكررات تجريبية كثيرة متماثلة ومتجانسة سواء بالنسبة لنفس التجربة أو للتجارب المختلفة، هذا إضافة إلى التكلفة العالية اللازمة لإنهاء مثل هذه التجارب. كل هذه العوامل السابقة وغيرها دفعت العديد من العلماء إلى البحث عن نماذج بيولوجية جديدة يمكن بواسطتها التغلب على تلك الصعوبات السابقة وتكون بديلا لاستخدام الحيوانات الكاملة. وفى الدراسة الحالية قمنا بتطوير بروتوكول لعزل خلايا الكبد من الأسماك، والتى أظهرت العديد من المميزات الهامة المتمثلة في بقائها في بيئة الزراعة حية ومؤدية لجميع الوظائف المنوطة بها كخلايا كبدية لفترة طويلة من الوقت امتدت لأكثر من إحدى عشر يوما، قدرتها الفائقة على الاتصال ببعضها البعض من خلال أربطة بين خلوية وكذلك التصاقها بمسطح الزرع النسيجي، القدرة الكبيرة على النمو التكاثر لتكون طبقة سمك خلية واحدة تغطى مسطح الزرع النسيجي في فترة وجيزة، على درجة عالية من الثبات الوراثي ، التكلفة البسيطة. ولعل جميع تلك العوامل السابقة توحي بإمكانية استخدام هذا النموذج البيولوجي الجديد معمليا وبنجاح كبير كأداة تجريبية في إجراء العديد من البحوث المتعلقة بإنتاج المركبات الحيوية للإنسان أو للحيوان على حد سواء على نطاق واسع وبأقل التكاليف.

ISOLATED FISH HEPATOCYTES: NEW BIOLOGICAL MODEL FOR PRODUCING OF BIOLOGICAL PRODUCTS

Yousif A. Elhassaneen

Dept. of Nutrition and food Science, Faculty of Home Economics, Minufyia University, Shebin El-Kom, Egypt.

In the present time, different whole organisms such as rats, mousses, dogs, fish, toads, bigs ..etc, actually used to produce a lot of biological products including serum and vaccine compounds. Although this line of research is still suffering from more and more difficulties. Some of them includes difficult control of the environment, takes long period of time, hardest characterization and homogeneity, and higher costs. Consequently, there is a great need to develop an alternate biological models which can be used in this field with overcome some of these difficulties. In the present investigation a protocol was developed to isolate hepatocytes from fish (Spot, Leiostomus xanthurus). This model of cells possess obvious advantages like attach to each other and to the culture substrate, survive for relatively extended periods of time (more than 11 days), proliferated forming confluent monolayer, genetic stability, diversity of origin, ability to screen large numbers of samples and low cost. All of these privileges showed that, this new biological system could be used successfully in the future as an experimental tool in producing of biological products for animal and human beings. on a large scale with low cost.

المرجع:

Elhassaneen, Y. A. (1999): Isolated fish hepatocytes: new biological model for producing of biological products.

Conference on biological products for the 21 st century "Future of serum and vaccine industry", 23 – 26 May, Future of serum and vaccine industry, Cairo University, Cairo, Egypt.

البحث الثامن:

التأثيرات السمية والبيوكيميائية للمركبات الهيدروكربونية العطرية عديدة الحلقات الناتجة عن طهى وتصنيع الأسماك

يوسف عبد العزيز الحسانين

قسم التغذية وعلوم الأطعمة- كلية الاقتصاد المنزلى- جامعة المنوفية- شبين الكوم- مصر.

تعد المركبات الهيدروكربونية العطرية عديدة الحلقات من الملوثات البيئية واسعة الإنتشار، والتى يمكن أن تتواجد فى الأغذية كنتيجة لعمليات الطهى أو التصنيع. وفى محاولة لتقدير التأثيرات السمية والمناعية والكيموحيوية لهذه المركبات فإنه قد تم إستخلاص تلك المركبات من أنسجة الأسماك المشوية والمقلية والمدخنة فى صورة مستخلصات نقية، ثم عرضت خلايا الكبد المفصولة من سمك الـ Spot (والتى أستخدمت كنموذج بيولوجى معملى جديد بديلا لحيوانات التجارب) لسلسلة من التخفيفات من كل مستخلص على حده وذلك لمدة ٧ أيام. هذا ولقد أوضحت النتائج التى تم الحصول عليها أن بعض التأثيرات السامة الخلوية مثل تعطل وظائف الليسوسومات (إختبار الـ NR) والميتوكوندريا (إختبار الـ MTT) والجدار الخلوى (إختبار الـ CV) قد لوحظت فى خلايا الكبد المزروعة عند التركيزات المنخفضة من تلك المركبات المختبرة، حيث سجلت مقاييس الامتصاص الضوئى بالنسبة لتلك الإختبارات قيما تتراوح بين ٤,٢-١٣٧,٥ ، ٤,٩-١٣٥,٣ ، ٩,٧-١٢٢,٧ (لمستخلص السمك المشوى)، ١,٦-١١٧,٢ ، ٦.٦-١٠٩,٥ ، ١١,١ - ١١٢,٥ (لمستخلص السمك المقلى)، ٤,٩-١٠٦,٩ ، ٩,٤-١١١,٢ ، ٧,٥-١٠٤,٢ (لمستخلص السمك المدخن). لذلك كان إختبار الـ (NR) أكثر حساسية تجاة تلك الملوثات الكيميائية المختبرة إذا ما قورن بالإختبارات الأخرى. علاوة على ما سبق فانه قد تم دراسة تأثير تلك المركبات على بعض المقاييس المناعية مثل معدل النمو ونشاط انزيمات البروتييز فى خلايا الكبد المزروعة، حيث لوحظ أن هناك تطابق كبير بين تلك المقاييس المناعية واختبارات السمية الخلوية . كذلك دلت

النتائج على أن هناك تطابق كبير بين جميع المقـــاييس الســـمية والمناعيـــة السابقة والمقاييس الكيموحيوية الحساسة الدالة على تلف خلايا الكبـــد مثـــل الـــ LDH ، AST ، ALT . ولعل جميع تلك النتائج السابقة تؤكد ضرورة العمل على تقليل تواجد وتكوين تلك المركبات السامة السابقة أثنـــاء طـــهى وإعداد الأغذية.

TOXICOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EFFECTS OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBON COMPOUNDS PRODUCED IN FISH BY COOKING AND PROCESSING

Yousif A. El-Hassaneen

Dept. of Nutrition and food Science, Faculty of Home Economics, Menoufia University, Shebin El- Kom, Egypt.

Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) are ubiquitous contaminants which may be present in foods as a consequence of processing and cooking. In a trial to assess the toxic, immunological and biochemical effects of these compounds, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) purified extracts were obtained from grilled, fried and smoked fish muscle samples and exposured for 7 days to primary liver cell's culture of Spot fish (Leiostomus xanthurus). The obtained results indicated that some cytotoxic effects such as lysosomes (NR), mitochondria (MTT) dysfunction and cell wall integrity (CV) were observed on the liver cells at the lower concentrations of this toxic chemicals. For NR, MTT and CV assays, the absorbance measurements (as a percent of control) were ranged 4.2-137.5, 4.9-135.3, and 9.7 - 122.7; 1.6-117.2, 6.6-109.5 and 11.1-112.5; and 4.9-106.9, 9.4-111.2 and 7.5-104.2 for grilled, fried and smoked fish muscle PAH extracts respectively. Consequently, NR is more sensitive to determine the PAH toxicity when compared with other assays. On the other side, the dose-response curves with the NR, MTT and CV assays corresponded well to those with growth assay

(GA, as determined by protein analysis) and protease activity (PA) which can be used as immunological indicators dysnfuntion for the liver cells. The influence of grilled, fried and smoked fish muscle PAH extracts on the lactic dehydrogenase (LDH), aspartate transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) activities which represent sensitive indicators of parenchymal liver damage were also evaluated in a trial to make a comparison among cytotoxic, immunological and biochemical assays. Although the hormesis phenomena was not exhibited with all dose-response curves of these biochemical assays, they were corresponding well with the cytotoxic and immunological ones. The results of this study emphasizes the desirability of minimizing their occurrence and formation of these toxic substances during cooking and processing of foods.

المرجع:

Elhassaneen, Y.A. (1999): Toxicological and biochemical effects of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds produced in fish by cooking and processing. The 6th the Arabic conference on food science and technology. March 16 – 18th , Egyptian Society of Food Science and Technology, Cairo, Egypt, pp 249 – 270.

البحث التاسع:

تقدير المخاطر الصحية لمركب النفثالين الناتج فى الغذاء أثناء الطهى معمليا خارج الجسم

يوسف عبد العزيز الحسانين ، خالد على عبد الرحمن شاهين ، اسلام أحمد محمود حيدر

قسم التغذية وعلوم الأطعمة– كلية الاقتصاد المنزلي– جامعة المنوفية– شبين الكوم– مصر

يمثل مركب النفثالين الفرد الأول فى مجموعة من المركبات الهامة واسعة الإنتشار والتى تعرف بالمركبات الهيدروكربونية العطرية عديدة الحلقات والتى يتعرض لها الإنسان من خلال الكثير من المصادر المهنية والبيئية والغذائية. ولقد قامت الدراسة الحالية بتقدير تركيز هذا المركب فى الكثير من الأغذية المشوية على الفحم والذى تراوح بين ٤٧ – ١٠٧ ملليجرام/كيلوجرام . وفى محاولة لتقدير التأثيرات السمية والمناعية والكيموحيوية لهذا المركب فإنه قد أستخدم لهذا الغرض المزارع الإبتدائية لخلايا الكبد المفصولة من الأسماك كنموذج بيولوجى جديد بديلا لحيوانات التجارب. ولقد أوضحت النتائج التى أمكن الحصول عليها أن بعض التأثيرات السامة الخلوية مثل تعطل وظائف الليسوسومات والميتوكوندريا والجدار الخلوى قد لوحظت فى خلايا الكبد عند التركيزات المنخفضة من هذا المركب، حيث كانت مقاييس الامتصاص الضوئى بالنسبة لوظائف خلايا الكبد المفصولة (كنسبة مئوية من العينة البلانك) بالنسبة لدرجة نشاط الليسوسومات و الميتوكوندريا والجدار الخلوى هى ١,٣ – ١٢٦,٢ ، ٣٢,١ – ١١٨,٧ ، ٦٦,٢ – ١٣١ على الترتيب. لذلك كانت الليسوسومات أكثر تأثرا وتعرضا للتلف بفعل هذا المركب الكيميائى. كذلك أوضحت منحنيات الإستجابة الخاصة بهذا المركب أن هناك تطابق كبير بين جميع التأثيرات السامة السابقة وبعض المقاييس المناعية الهامة مثل معدل النمو ونشاط انزيم البروتييز فى خلايا الكبد. وعلى الجانب الآخر قدر مدى تأثير النفثالين على بعض المقاييس الكيموحيوية الحساسة الدالة على تلف خلايا الكبد مثل الـ LDH ، GPT ، GOT ، حيث لوحظ أن جميع تلك المقايس قد إزدادت بنسب مختلفة بلغت أقصاها ٤٥٧,٢

، ٣٦٧,٧ ، ٣٩٤,٨ (كنسبة مئوية من العينة البلانك) وذلك عند تركـيز ٠,١ % من مركب النفثالين. ولعل نتائج تلك الدراسة الحالية تؤكد ضرورة العمـل على تقليل تواجد وتكوين هذا المركب الكيميائي السام فـــي الأغذيـــة أثنـــاء الطهي ، هذا إضافة إلى وضع بعض القيود على إستخدام هذا المركب فــــي الأغراض المنزلية المختلفة.

HEALTHY HAZARD ASSESSMENT OF NAPHTHALENE PRODUCED IN FOODS DURING COOKING *IN VITRO*

Yousif A. Elhassaneen , Khaled A. Shaheen and Eslam A. Hedar

Dept. of Nutrition and food Science, Faculty of Home Economics, Minufiya University, Shebin El- Kom, Egypt.

Naphthalene (NPH) represent the first member in a widely spread group of compounds called polycyclic aromatic hydrocarbons. Human being are exposed to this compound from a wide variety of occupational, environmental and dietary sources. The present study recorded a significant concentration of NPH (ranged from 47-107 mg/kg) in some charcoal-broiled foods distributed in Egyptian local markets. In a trial to assess the toxic, biochemical and immunological effects of this compound, primary liver cell's culture of Spot fish (Leiostomus xanthurus) was used as a new experimental biological model. The obtained results indicated that some cytotoxic effects such as lysosomes and mitochondria dysfunction as well as l cell wall integrity were observed on the liver cells at the lower concentrations of this tested chemical. The absorbance measurements (as a percent of control) for these cytotoxic tests were were ranged 1.3 – 126.2, 32.1 – 118.7 and 66.2 – 131.0 for all different of studied NPH dilutions respectively. Consequently, liver lysosomes activity is more sensitive and subject to the adverse cytotoxic affects of NPH when compared

with other cell organelles. The dose-response curves with the three cytotoxic assay were corresponded well to those with growth assay (GA) and protease activity (PA) which can be used as immunological indicators dysnfuntion for the liver cells. On the other side, the influence of NPH on the lactic dehydrogenase (LDH), glutamic pyruvic transaminase (GPT) and glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) activities which represent sensitive indicators of parenchymal liver damage were also evaluated in a trial to make a comparison among cytotoxic, immunological and biochemical assays. At 0.1 % dilution of NPH, these factors were increased by the ratio of 457.2, 367.7 and 394.8 (as a % of control samples), respectively. The results of the present investigation emphasizes the desirability of minimizing their occurrence and formation of this toxic substance during cooking of foods. In additionally, to put some restrictions on the using of this toxic compounds in different household applications.

المرجع:

Elhassaneen, Y. A.; Khaled A. S. and Hedar, I.A. (1999): Healthy hazard assessment of naphthalene produced in foods during cooking ***in vitro. The Fourth*** Egyptian Conference of Home Economics (1-2 September), Faculty of Home Economics, Menoufia University, Egypt.

البحث العاشر:

نموذج بيولوجى جديد لتقدير التلوث الحادث فى البيئة المائية بالمخلفات الصناعية والزراعية معمليا خارج الجسم

يوسف عبد العزيز الحسانين

قسم التغذية وعلوم الأطعمة- كلية الاقتصاد المنزلى- جامعة المنوفية- شبين الكوم- مصر

تعد المخلفات الصناعية والزراعية من الملوثات الهامة واسعة الإنتشار فى البيئة المائية. وفى محاولة لتقدير التأثيرات السامة لهذه الملوثات فإنه قد أستخدم لهذا الغرض المزارع الإبتدائية لخلايا الكبد المفصولة من الأسماك، كنموذج بيولوجى معملى جديد بديلا لحيوانات التجارب. ولقد أوضحت النتائج التى أمكن الحصول عليها أن بعض التأثيرات السامة الخلوية مثل تعطل وظائف الليسوسومات (إختبار الـ NR) والميتوكوندريا (إختبار الـ MTT) والجدار الخلوى (إختبار الـ CV) قد لوحظت فى خلايا الكبد المزروعة عند التركيزات المنخفضة من تلك المخلفات السامة، حيث سجلت مقاييس الامتصاص الضوئى بالنسبة لتلك الإختبارات قيما تتراوح بين ٣٦,٢-١١٥,٨ ، ٣٧,٨-١٠٤,٢ ، ٢٢,٦-١٠٩,٢ (لمخلفات مصانع الورق) ، ٤١,٣٧-١٢٦,٣ ، ٤٤,٣-١٢٤,١ ، ٢٥,٧-١٢٦,٥ (لمخلفات مصانع البترول) ، ٥٣,٥-١٣٢,٧ ، ٥٧,٧-١٣٧,٣ ، ٣٢,٦-١٣٣,٢ (للمخلفات الزراعية). لذلك كان إختبار الـ (CV) أكثر حساسية تجاة تلك الملوثات الكيميائية المختبرة إذا ما قورن بالإختبارات الأخرى. علاوة على ما سبق فانه قد تم دراسة تأثير تلك الملوثات على بعض المقاييس البيوكيماوية مثل معدل النمو ونشاط انزيمات البروتييز واللاكتيك ديهيدروجينيز فى خلايا الكبد المزروعة، حيث لوحظ أن هناك تطابق كبير بين تلك المقاييس الكيماوية واختبارات السمية الخلوية . لذلك فان نتائج تلك الدراسة من الممكن أن تمثل بداية طيبة تجاه استخدام هذا النموذج البيولوجى المعملى المبسط والغير مكلف من خلايا الكبد المزروعة للكشف عن السمية الحادة لملوثات الوسط المائى.

A NEW BIOLOGICAL MODEL SYSTEM FOR THE DETERMINATION OF INDUSTRIAL AND AGRICULTURAL EFFLUENTS POLLUTED THE AQUATIC ENVIRONMENT *IN VITRO*

Yousif A. Elhassaneen

Dept. of Nutrition and food Science, Faculty of Home Economics, Minufiya University, Shebin El- Kom, Egypt.

Industrial and agricultural effluents represent wide spread contaminants of the aquatic environment. In a trial to assess the toxic effects of these pollutants, primary liver cell's culture of Spot fish (Leiostomus xanthurus) was used as an alternative new biological model of the whole organisms. The obtained results indicated that some cytotoxic effects such as lysosomes (NR), mitochondria (MTT) dysfunction and cell wall integrity (CV) were observed on the liver cells at the lower concentrations of this toxic chemicals. For NR, MTT and CV assays, the absorbance measurements (as a percent of control) were ranged 36.2-115.8, 37.8-104.2, and 22.6 -109.2 ; 41.7-126.3, 44.3-124.1 and 25.7-126.5 ; and 53.2-132.7, 57.7-137.3 and 32.6-133.2 for paper, petroleum industries and agricultural effluents, respectively. Consequently, CV is more sensitive to industrial and agricultural effluents when compared with other assays. On the other side, the influence of such effluents on the biochemical assays such as growth assay (GA, as determined by protein analysis), protease activity (PA) and lactic dehydrogenase acitivity (LDH) of isolated liver cells were determined in a trial to make a comparison between biochemical and cytotoxicity assays. The present data demonstrated that all of cytotoxic assays i.e. NR, MTT and CV corresponded well to those with GA, PA and LDH assays. The results of this study can constitute a milestone toward application of the simple inexpensive laboratory biological-model system for screening of the acute toxicites of aquatic pollutants.

المرجع:

Elhassaneen, Y.A. (2000): A new biological model system for the determination of industrial and agricultural effluents polluted the aquatic environment *in vitro,* Pakistan Journal of Biological Sciences, 4 (1): (In press).

بعض الآفاق المستقبلية التى يفتحها هذا الإنجاز العلمى

بعد كل ما أسلفناه من ذكر يتعلق بنجاح فصل وزراعة خلايا الكبد، وتأسيس نموذج بيولوجى معملى جديد، فإن ذلك يفتح آفاق جديدة فى المستقبل، نذكر منها:

أولا: دراسة ميكانيكية تأثير وعمل بعض المواد الغريبة والسامة التي تدخل الجسم البشرى سواءا عن طريق البيئة المحيطة أو الغذاء، وكيفية تعامل الكبد معها، وبالتالي كيف يمكن إزالة هذا الأثر السام أو التقليل من حدوثه.

ثانيا: دراسة التأثيرات التداخلية والتفاعلات التى تحدث بين المجاميع المختلفة من المركبات السامة التي تتواجد سويا فى آن، واحد وتلوث البيئة المائية والأرضية، ومدى تأثير ذلك على زيادة أو نقص درجة سمية بعضها البعض.

ثالثا: إمكانية استخدام هذا النموذج المعملي في إنتاج بعض المركبات الحيوية الهامة مثل الألبيومين، والجلوكوز والفيتامينات ..الخ، بصورة طبيعية، وعلى نطاق صناعي، وبأقل التكاليف.

الجوائز التي رشح وحصل عليها هذا الإنجاز العلمي

نظرا لأن ما وفقنا الله سبحانه وتعالى إليه في هذا العمل يعد إنجازا علميا شهد به العديد من العلماء على النطاق المحلي والعالمي، فإنه قد لاقي العديد من التكريمات على المستويات المختلفة:

أولا: وافق مجلس جامعة المنوفية برئاسة السيد الأستاذ الدكتور /محمد محمد إبراهيم رئيس الجامعة على ترشيح هذا العمل إلى جائزة الملك فيصل العالمية في مجال العلوم لعام ١٩٩٨م، والتي تعد واحدة من أكبر الجوائز العلمية على مستوى العالم ، وذلك لما رآه في هذا العمل من تميز وتفرد ونبوغ.

بسم الله الرحمن الرحيم

جامعة المنوفية
ادارة البحوث العلمية

السيد الاستاذ الدكتور / عميد كلية الاقتصاد المنزلي

تحية طيبة وبعد ***

بالاشارة الى كتاب سيادتكم بشأن موافقة مجلس الكلية بتاريخ ١٩٩٨/٣/٢١ على ترشيح السيد الدكتور / يوسف عبد العزيز الحسانين المدرس بقسم التغذية وعلوم الاطعمة على جائزة الملك فيصل العالمية فى مجال (العلوم)
نتشرف بالافادة بأنه بعرض الموضوع على مجلس الجامعة بجلسته بتاريخ ١٩٩٨/٦/٢٨ حتى ١٩٩٨/٦/٣٠ قرر
(الموافقة على أن يضع مجلس الدراسات العليا والبحوث ضوابط الترشيح للجوائز)
برجاء التفضل بالاحاطة

وتفضلوا بقبول فائق الاحترام والتقدير

تحريرا فى /١٩٩٨/٧/١٦

نبيل / ....

٩٨/٧/١٨

نائب رئيس الجامعة
للدراسات العليا والبحوث
(أ.د/ مصطفى شحاته دياب)

ثانيا: حصل أحد البحوث العلمية المنبثقة عن هذا العمل والذي يحمل العنوان التالي: " تأثير الفيتامينات على قدرة احداث السرطان بواسطة بعض ملوثات الغذاء الكيماوية المنتشرة بالغذاء معمليا خارج الجسم " على جائزة جامعة المنوفية للبحوث المتميزة لعام ١٩٩٨م.



إدارة البحوث العلمية

شهادة تقدير

السيد ..د/يوسف عبد العزيز عبده الحسانين ....

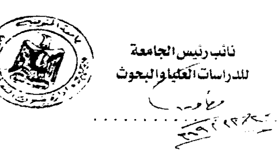
يسعد أسرة جامعة المنوفية أن تهنىء سيادتكم

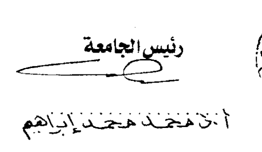
بحصولكم على جائزة جامعة المنوفية للبحوث المتميزة

لعام ١٩٩٨م ....

فى موضوع تأثير الفيتامينات على قدرة إحداث السرطان بواسطة بعض ملوثات الغذاء الكيماوية المسببة للسرطان معمليا خارج الجسم -

متمنين لسيادتكم دوام التقدم والتوفيق





نائب رئيس الجامعة للدراسات العليا والبحوث	رئيس الجامعة
....	أ.د/ محمد محمد إبراهيم

ثالثا: تمت المخاطبة شخصيا من قبل السيد الدكتور / وزير الدولة للتموين والتجارة الداخلية بخصوص إمداد الوزارة بالنتائج العلمية المنبثقة عن أحد البحوث العلمية المتعلقة بهذا العمل والتي تحمل العنوان التالي: تقدير المخاطر الصحية لمركب النفثالين الناتج في الغذاء أثناء عمليات الطهي والتصنيع، حتى يتسنى للوزارة اتخاذ اللازم نحو حماية المستهلك من جراء استخدام هذا المركب فى الأغراض المنزلية والصناعية المختلفة.

وزارة التجارة والتموين
مكتب الوزير
الادارة العامة للارشاد الاستهلاكى وحماية المستهلك

السيد الاستاذ الدكتور / يوسف عبد العزيز حسنين
بكلية الاقتصاد المنزلى – جامعة المنوفية
محافظة المنوفية

تحية طيبة وبعد /

بالاشارة الى المؤتمر العلمى الخامس بكلية الاقتصاد المنزلى – جامعة حلوان الذى عقد بكلية السياحة والفنادق خلال الفترة من ٥/٥ – ١٩٩٨/٥/٦ .

نود الاحاطة بأنة تم مناقشة احد الموضوعات العلمية الخاصة بالتغذية والاطعمة فقد اثير من خلال احد هذه الابحاث ان استعمال مادة النفتالين المستخدمة فى حفظ الملابس حيث ثبت علميا اضرارها على صحة الانسان وانها تسبب مرض السرطان .

برجاء التكرم بموافاتنا بنتائج هذه الدراسة العلمية حول استخدام النفتالين واضراره على الصحة العامة نظرا لان الوزارة بصدد دراسة حول هذا الموضوع الهام .

شاكرين ومقدرين دوركم الفعال وتعاونكم معنا فى مجال حماية المستهلك .

والله ولى التوفيق .

وتفضلوا بقبول فائق الاحترام .

مديرعام
الادارة العامة للارشاد الاستهلاكى وحماية المستهلك

عنيات محمد عبد الوهاب

فى/ /١٩٩٨/٥

رابعا: تم الاتصال من قبل السلطة الفلسطينية بخصوص استغلال هذا النموذج البيولوجي المعملي الجديد " خلايا الكبد المزروعة " في الكشف عن مدى صلاحية المياه الواقعة تحت سلطة دائرة المياة الفلسطينية للاستهلاك الآدمي، حيث سيقوم فريق علمي لآحقا بالسفر لإنجاز هذا المشروع.

خامسا: تم عقد لقاء مع رئيس مجلس إدارة شركةMed-Chem Cooperationar بالولايات المتحدة الأمريكية، بخصوص وضع بروتوكول يتم من خلاله الاستفادة من نتائج البحوث المتعلقة بهذا الإنجاز العلمي" زراعة خلايا الكبد معمليا خارج الجسم " في إنتاج بعض الكواشف الجاهزة kits التي يتم بواسطتها الكشف عن الملوثات البيئية المختلفة بطرق فورية سريعة ودقيقة.

صورة للمقالات التي قامت بنشرها بعض الصحف والمجلات عن هذا الإنجاز العلمي



الكلمة

جريدة مستقلة شاملة
صحافة جديدة ... كلمة صادقة

رئيس مجلس الإدارة:
محمد لطفى عبد الرحيم

رئيس التحرير:
على خليل




١٦ صفحة — ١٠٠ قرش

صفحة الخامسة عشر — ١٩ يونيو ١٩٩٧م

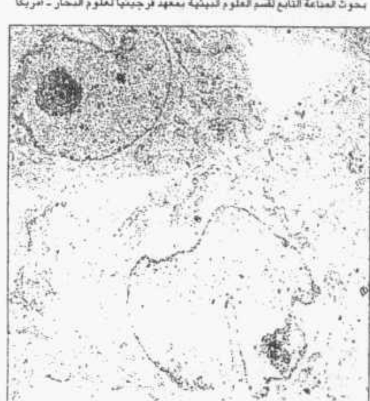
تطوير العلوم وآفاق المستقبل

لأول مرة فى العالم
زراعة خلايا الكبد من الاسماك
إنجاز علمى لعالم شاب مصرى

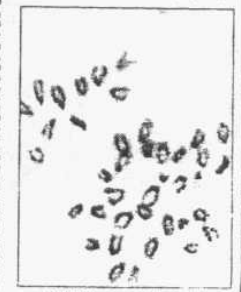
[illegible]



صورة للدكتور يوسف عبدالعزيز وهو يقوم بفصل وزراعة خلايا الكبد بمعمل بحوث المناعة التابع لقسم العلوم البيئية بمعهد فرجينيا لعلوم البحار - أمريكا



خلايا الكبد المزروعة تلتصق وتتصل ببعضها البعض من خلال أربطة خارجية



التحليل الكروموسومي لخلايا الكبد المزروعة والذي أظهر احتواء الخلايا على ٤٨ زوج من الكروموسوما

جريدة سياسية مستقلة شاملة — أسبوعية تصدر شهريا مؤقتا

الإدارة والتحرير
٥ ش رومـالى من فـيـصـل
محطة المساحة - الهرم
ت وفـــاكس : ٥٨٦٩٨٩٢

الاشتراكات والاعلانات
يتفق عليها مع الإدارة

الغد
صوت الشباب العربي
ALGHAD

مستشار التحرير
محمد العزبى

رئيس التحرير
إبراهيم أبو الحسن

العدد التاسع — الجمعة ١٨ ذو الحجة ١٤١٧هـ - ٢٥ أبريل ١٩٩٧م — الثمن ٤٠ قرشا

آفاق علمية •• آفاق علمية •• آفاق علمية •• آفاق علمية

تجربة مصرية لزراعة خلايا الكبد من الاسماك

قام العالم المصرى د / يوسف عبد العزيز الحسانين المدرس بكلية الاقتصاد المنزلى ـــ جامعة المنوفية . باجراء سلسة من المحاولات بقسم العلوم البيئية ـــ معهد فرجينيا لعلوم البحار ـــ أمريكا لزراعة خلايا االكبد المفصولة من سمك الـــ SPOT معمليا والتغلب على الصعاب التي واجهت العلماء السابقين فى هذا المجال حيث تلخص ا لتكنيك في تخدير الاسماك وتشريحها لاستخراج الكبد منها ووضعة فى محلول ملحي يدعى HBSSثم اجراء عملية هضم للكبد بواسطة محلول انزيمى مكون من التربسين المذاب فى مادة ال EDTA متشابها بذلك لما يحدث من هضم للمواد البروتينية انزيما بداخل الجسم . . أعقب ذلك استخلاص خلايا الكبدالمفصولة وعدها وزراعتها بالتركيزات المناسبة

فى مسطح الزراعة النسيجى ووضعها فى الحضانات المناسبة . . هذا وقد أظهرت الخلايا قدرة كبيرة على التكيف للزراعة معمليا فى مجال واسع من درجات الحرارة (٢١ ـــ ٢٧ درجة مئوية) وفى وجود اكثر من نوع من البيئات اللازمة للنمو والتى تم تركيبها بمعرفة هؤلاء العلماء . . ودل الوصف الظاهرى أن خلايا الكبد المزروعة قد التصقت بقاع مسطح الزرع النسيجى فى فترة وجيزة من زراعتها تراوحت ما بين ٤ ـــ ٦ ساعات وحدث انقسام للخلايا وازداد عددها حتى تكونت طبقة منتظمة من الخلايا تلتصق وتتصل ببعضها ببعض من خلال اربطة بين خلوية (شكل - ١)

كذلك أعطت خلايا الكبد المزروعة معمليا الخواص الهستوكيماوية المميزة لها كخلايا كبد علاوة على ما أظهرة التحليل الكروموسومى من احتواء خلايا الكبد المزروعة على عدد ٤٨ كروموسوم (شكل ـــ ٢ وهوالعدد والشكل المميز لكروموسومات هذا النوع من الكائنات التى فصلت منها هذة الخلايا .

اجرى العالم المصرى تجاربه تحت اشراف فريق من العلماء الامريكين بقيادة د / محمد فيصل عالم امريكى من اصل مصرى .

من أهمها . . دراسة مدى تاثير الملوثات البيئية ومقدرتها على احداث سرطان الكبد وقياس السمية الخلوية والتاثيرات البيوكيماوية السامة الملونة للوسط المائى مثل المعادن الثقيلة والمركبات الهيدروكوبونية العطرية عديدة الحلقات وكذلك تاثيرات الفيتامينات كمواد مضادة للسرطان الحادث عليها فى هذا المضمار والتى تم عرضها ونشرها فى المؤتمرات العلمية المتخصصة عالميا ومحليا قدراً هائلا من النجاح .

يتضح مما سبق . . أن ما قام به العالم المصرى الدكتور / يوسف والعلماء الأجانب يعد انجازا علميا شهد به العديد من العلماء على النطاق المحلى والعالمى وذلك لما فتحه هذا الانجاز للكثير من آفاق المستقبل امام الباحثين العاملين فى المجالات العلمية المختلفة مثل مجالات دراسة السموم والكيمياء الحيوية والتغذية العلاجية وأبحاث السرطان.

د. يوسف عبد العزيز



العدد ... ديسمبر ١٩٩٨

"الكبد اكبر واهم غدة بجسم الفقاريات بدءاً بالأسماك وانتهاءً بالإنسان، وذلك نظرا لما يقوم به هذا العضو من وظائف هامة تتمثل في تنظيم عمليات التحول الغذائي للمركبات الكربوهيدراتية، وانتاج بروتينات البلازما، وازالة سمية المواد الغريبة السامة التي تدخل جسم الكائن الحي بطريقة مباشرة او غير مباشرة.
كذلك يعرف الكبد بانه الحامل الرئيسي للكيماويات السامة مثل المبيدات والسموم الفطرية والمعادن الثقيلة الناتجة عن تلوث البيئة بالمخلفات والنفايات الصناعية والمركبات الهيدروكربونية عديدة الحلقات الناتجة عن التلوث بعادم السيارات ودخان السجائر والحرق غير الكامل للمخلفات الزراعية ... إلخ.
كل هذه العوامل وغيرها جعلت من خلايا الكبد النموذج الذي يستخدمه العلماء لدراسة أمراض الكبد، وأداة لقياس التسمم الكبدي، وكذلك دراسة نواتج التحولات الميتابلازمية للعقاقير والمركبات الغريبة التي تدخل جسم الانسان."

أمـل جديـد.. لمرضـى الكبـد

عالم شاب من المنصورة.. يبهر علماء فرجينيا

نجح في زراعـة خـلايا.. مـفـصـولة من الأسـمـاك

تحقيق: مصطفى عزت

وحديثا.. ظهر قلق بالغ من تزايد عدد حالات المصابين بتليف وسرطان الكبد في الفقاريات شاملا ذلك الانسان والأسماك والقوارض، وازداد القلق اكثر عندما بدأت هذه الظاهرة تأخذ شكلاً وبائياً خطيراً انتشر بين التجمعات السكانية والحيوانية، خاصة تلك التي تقطن البيئات الملوثة في كل انحاء العالم بما في ذلك مصر. ولقد استلزم ذلك من العلماء، أن يضاعفوا من مجهوداتهم وأبحاثهم لكي يتغلبوا على هذه الظاهرة والتي باتت تهدد كيان المجتمع وتقضي على افراده وشبابه.. وهذا بالفعل ما بدأه العلماء في تجاربهم باستخدام حيوانات التجارب الكاملة مثل الفئران والأسماك والكلاب.. إلخ كأدوات تجريبية لدراسة مدى تأثير مشكلة التلوث البيئي على وظائف الكبد، وكذلك البحث عن وسائل للحد من تأثيرها وامكانية علاجها.

إلا أن المشاكل الكثيرة التي قابلت العلماء في هذا النوع من التجارب قد مثلت عقبات، من الصعب إلى حد ما التغلب عليها، والتي تنحصر في:

تكلفة عالية

- التكلفة العالية الناتجة عن استخدام عدد كبير من حيوانات التجارب (مئات بل الاف الحيوانات للتجربة الواحدة)، وما يستتبع ذلك من لزوم الرعاية لهذه الحيوانات وتغذيتها.
- صعوبة التحكم في جميع الظروف البيئية المحيطة بالتجربة.
- صعوبة الحصول على افراد متجانسة ومتشابهة من حيوانات التجارب لضمان تطابق النتائج المتحصل عليها.
- التأثيرات التداخلية بين الكبد وباقي أعضاء الجسم في الحيوانات المختلفة وهي ظاهرة يصعب رصدها وتحديدها.
- علاوة على الفترة الزمنية الطويلة التي تستلزم لهذا النوع من التجارب التي قد تمتد إلى سنوات.


د. يوسف الحسانين

كل هذه العوامل السابقة وغيرها دفعت الكثير من العلماء للتفكير في ادوات بحثية بديلة يمكن بواسطتها التغلب على كل أو بعض مشاكل هذا النظام السابق ولعل من أبرزها ما قام به العلماء الأمريكان من مجهودات لزراعة خلايا الكبد معمليا في أوان خاصة بالزراعة، ولكن الكثير من المشاكل كان عائقا أمام تطور وتقدم هذا الاتجاه، والتي كان من أهمها كيفية المحافظة على هذه الخلايا في بيئة الزراعة حية ومؤدية لوظائفها المميزة لها كخلايا للكبد لفترة زمنية طويلة، كل ذلك

جامعة المنوفية ترشحه لجائزة الملك فيصل العالمية

نتج من قلة التصاق هذه الخلايا بقاع أواني الزراعة، وتحطم الأنظمة الانزيمية الخاصة بهذه الخلايا. أضف إلى ذلك عدم قدرة هذه الخلايا على الانقسام النشط في بيئة الزراعة.

وفي الآونة الأخيرة وبالتحديد في عام ١٩٩٥ قام العالم المصري د. يوسف عبدالعزيز الحسانين -ابن المنصورة- مدرس الكيمياء الحيوية والتغذية بكلية الاقتصاد المنزلي -جامعة المنوفية وتحت اشراف فريق من العلماء الأمريكيين بقيادة الاستاذ الدكتور M. Faisal استاذ المناعة والسرطان، والدكتور R. Huggette استاذ الكيمياء، ونائب رئيس وكالة حماية البيئة الامريكية باجراء سلسلة من المحاولات بقسم العلوم البيئية -معهد فرجينيا لعلوم البحار- امريكا، لزراعة خلايا الكبد المفصولة من سمك الـ Spot معمليا والتغلب على الصعاب التي واجهت العلماء السابقين في هذا المجال.

تتلخص التكنيك في تخدير الأسماك وتشريحها لاستخراج الكبد منها ووضعه في محلول ملحي يسمى HBSS ثم اجراء عملية هضم للكبد بواسطة محلول انزيمي مكون من التربسين المذاب في مادة الـ EDTA مشابها بذلك لما يحدث من هضم للمواد البروتينية انزيميا بداخل الجسم. أعقب ذلك استخلاص خلايا الكبد المفصولة وعدها وزراعتها بالتركيزات المناسبة في اواني الزراعة المخصصة لهذا الغرض والتي تحتوي على بيئات الزراعة السائلة التي تم تركيبها وتجهيزها خصيصا لهذا الغرض بواسطة العلماء السابقين، ثم اخيراً تم وضع الخلايا المزروعة في الحضانات المضبوطة على درجة الحرارة والضغط المناسبين..

اظهرت الخلايا قدرة كبيرة على التكيف للزراعة معمليا في مجال واسع من درجات الحرارة (٢١ - ٢٧ درجة مئوية) وفي وجود اكثر من نوع من البيئات اللازمة للنمو والتي تم تركيبها بمعرفة هؤلاء العلماء..

ودل الوصف الظاهري أن خلايا الكبد المزروعة قد التصقت بقاع اواني الزراعة في فترة وجيزة من زراعتها تراوحت ما بين ٤ - ٦ ساعات وحدث انقسام للخلايا وازداد عددها حتى تكونت طبقة منتظمة من الخلايا تلتصق وتتصل ببعضها البعض من خلال أربطة بين خلوية وكذلك أعطت خلايا الكبد المزروعة معمليا الخواص الهستوكيميائية المميزة لها كخلايا كبد علاوة على ما أظهره التحليل الكروموسومي من احتواء خلايا الكبد المزروعة على العدد والشكل المميز لكروموسومات هذا النوع من الكائنات التي فصلت منها هذه الخلايا.

د. يوسف الحسانين: الآن.. تخليق المركبات الحيوية.. أصبح ممكنا


رئيس مجلس الإدارة
سمير رجب
رئيس التحرير
محمد فودة
الطبعة الثانية

المساء
مؤسسة دار التحرير للطبع والنشر



٢٤ شارع زكريا أحمد - القاهرة
تليفون: ٥٧٨١٥١٥ - عشرة خطوط
http://www.tahrir.net
E.mail:tahrir@tahrir.net
١٦ صفحة - ٤٠ قرشا

١٧ من هاتور ١٧١٥ ق — AL MESSA - NOVEMBER,26 -1998 - TELEX 92475 - TAHRIR U.N. FAXIMAIL 5781616. — العدد ١٥١٨٥

أخبار × سطور

● اصدر د. مفيد شهاب وزير التعليم العالى والبحث العلمى قرارا بتعيين د. ممدوح محمد عبد المجيد مدرسا للمناهج وطرق تدريس علوم الكيمياء بكلية التربية النوعية بأشمون جامعة المنوفية .. بعد حصوله على درجة دكتوراه الفلسفة فى التربية «مناهج وطرق تدريس»

● ٥٠ طبيبا/ يجرى تدريبهم حاليا فى مشتول السوق للعمل فى الجناح الجديد الذى انشىء بالمستشفى المركزى للعناية المركزة والغسيل الكلوى .. الجناح يسع ١٠٠ سرير ويدخل الخدمة مع بداية العام الجديد .. وصرح بذلك د. محمد سليمان رئيس قسم الجراحة ووكيل المستشفى.

● جامعة المنوفية .. رشحت د. يوسف عبد العزيز الحسانين مدرس التغذية وعلوم الأطعمة بكلية الاقتصاد المنزلى لجائزة الملك فيصل العالمية فى مجال العلوم .. بعد نجاحه فى زراعة خلايا الكبد فى الاسماك .. وتطبيق هذا البحث فى عدة مجالات اهمها ابحاث التغذية والسرطان والكيمياء الحيوية وتلوث البيئة.

● المهندس سعيد النجار - محافظ بنى سويف - شكل لجنة برئاسة فتحى عفيفى - مدير عام الشئون الاجتماعية - لاختيار ١٠ جمعيات أهلية حتى تنفذ بها مشروعات المكون الاجتماعية : تحسين الطرق والبيئة.


د. يوسف الحسانين — د. ممدوح عبد المجيد
عبد الرحمن زاهر — جمال محمود

● عبد الرحمن زاهر عبد الرحمن تمت ترقيته الى درجة مدير عام بالادارة العامة للتفتيش بنيابة استئناف المنصورة.

● العميد جمال محمود عماد - فاز بالتزكية - للمرة الثانية برئاسة مجلس ادارة قومية العجوزة.

● مكان وابور المياه القديم فى طما ٥٠٠٠ م، سيتم انشاء مجمع طبى .. صرح بذلك المهندس عبد الله على متولى رئيس المركز وقال انه تم اعتماد ٢٥٠ الف جنيه من مديرية الصحة بسوهاج للاعمال فى المرحلة الأولى.

● وكيل الوزارة المسئول عن تليفونات دمياط - المهندس ضياء الدين محمود ابراهيم - وافق على انشاء كابينة ملاصقة لكلية التربية النوعية بناء على طلب العميد د. محمود التاغى - مزودة بالخدمات المحلية والدولية «المهندس ضياء الدين بدأ تشغيل ٤ خطوط جديدة لدمياط الجديدة للقضاء مؤقتا على ظاهرة تأخير التركيب فى الوحدات والمجاورات.



٢٠ صفحة ٤٠ قرشا

رئيس مجلس الإدارة ورئيس التحرير
سمير رجب



الجمهورية

دار التحرير للطبع والنشر
٢٤ شارع زكريا أحمد - القاهرة
تليفون: ٥٧٨٣٣٣ - البرق البريدى: ١١٥١١
فاكسميلى: ٥٧٨١٧١٧ - ٥٧٨١٦٦٦ - ٥٧٨١٥٥٥
http://www.tahrir.net
E.mail:tahrir@tahrir.net

الثلاثاء ٢٧ ربيع اول ١٤١٩هـ - ٢١ يوليو ١٩٩٨م - ١٤ ابيب ١٧١٤ق - العدد ١٦٢٧٦ - السنة ٤٥

"AL GOMHURIA" JULY, 21 - 1998

مجلس جامعة المنوفية:

لجنة لإنشاء فرع مدينة السادات قبول ٢٠٠ طالبة بمدرستى التمريض

شبين الكوم - عبدالستار العيسوى:

وافق مجلس جامعة المنوفية برئاسة د. محمد ابراهيم على تشكيل لجنة لاعداد تصور لانشاء فرع للجامعة بمدينة السادات ولجنة لمتابعة المشروعات البحثية والتنسيق بين الجامعة والجهات المستفيدة.

ووافق المجلس على تشكيل لجنة لوضع ضوابط تعيين الاساتذة من الخارج وعلى انشاء قاعة للاطلاع واستراحة لاعضاء هيئة التدريس امام كلية الزراعة بشبين الكوم.

وقبول ١٠٠ طالبة بالمدرسة الثانوية للتمريض و١٠٠ طالبة بالمدرسة الفنية للتمريض وتعديل لائحة قسم اللغة الالمانية بكلية الآداب أو زيادة ساعات التدريس الاكلينيكى لمادة الانف والأذن والحنجرة بالفرقة الرابعة من ٦٠ إلى ٧٠ ساعة.

ووافق المجلس على ترشيح د. محمد زكريا عنانى الاستاذ بآداب الاسكندرية ود. يوسف عبدالعزيز الحسانين المدرس بكلية الاقتصاد بالمنوفية لجائزة الملك فيصل العالمية.



تأسس ٢٧ ديسمبر ١٨٧٥
أصدر العدد الأول في ٥ أغسطس ١٨٧٦ . سليم وبشارة تقلا

رئيس مجلس الإدارة ورئيس التحرير
إبراهيم نافع

الخميس : ٦ من ربيع الآخر ١٤١٩ هـ - ٣٠ يوليو (تموز) ١٩٩٨ - ٢٣ أبيب ١٧١٤ — السنة ١٢٢ . العدد ٤٠٧٧٨

ترشيح أستاذين بجامعة المنوفية لجائزة الملك فيصل العالمية

شبين الكوم - محمد عبد الحليم:

وافق مجلس جامعة المنوفية في اجتماعه برئاسة الدكتور محمد ابراهيم رئيس الجامعة على ترشيح الدكتور محمد زكريا عناني الأستاذ بآداب الاسكندرية ، والدكتور يوسف عبد العزيز الحساني المدرس بكلية الاقتصاد بجامعة المنوفية لجائزة الملك فيصل العالمية لعام ١٩٩٩م. كما قرر انشاء قاعة للاطلاع واستراحة لأعضاء هيئة التدريس أمام كلية الزراعة ، ووضع لائحة جديدة لمخيم العلوم المخصص لأعضاء هيئة التدريس..

الخاتمة

وبعد عزيزي القارئ .. فهذا بعض ما وفقنا الله سبحانه وتعالى إليه من علم ، فإن كان قد صادفنا فيه الصواب فهذا فضل الله يؤتيه من يشاء من عبـــادة .. وان كان بهذا العمل جانبا من النقص أو التقصير فإن الكمال لله وحدة ، ومــا أوتيتم من العلم إلا قليلا.. أهلا بملاحظاتك عزيزي القارئ ، وأنا كلى ثقة من أنها سوف تصقل هذا العمل وتضيف إليه الكثير والكثير ،،

دكتور/ يوسف عبد العزيز الحسانين
شبين الكوم في ٢٠٠٠/١/٢٤



مطابع جامعة المنوفية